

Міністерство освіти і науки України
Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича
Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

Худий Олексій Ігорович

УДК: 606:639.3(477.8)

ДИСЕРТАЦІЯ
БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ЗАСАДИ ЗБЕРЕЖЕННЯ ТА ВІДТВОРЕННЯ
РИБНИХ РЕСУРСІВ ВОДОЙМ КАРПАТСЬКОГО РЕГІОНУ
03.00.20 – біотехнологія

Подається на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ О.І. Худий

Науковий консультант: **Марченко Михайло Маркович**, доктор біологічних наук, професор, Заслужений діяч науки і техніки України

Київ – 2019

АНОТАЦІЯ

Худий Олексій Ігорович. Біотехнологічні засади збереження та відтворення рибних ресурсів водойм Карпатського регіону. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертаційна робота на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія. – Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського» МОН України, 2019. Дисертаційна робота виконана в Чернівецькому національному університеті імені Юрія Федьковича МОН України.

Дисертація присвячена розробці та застосуванню біотехнологічних підходів задля підвищення ефективності технологій штучного відтворення аборигенних видів риб водойм Карпатського регіону.

Розглянуто сучасний стан іхтіоценозів у басейнах річок Дністер, Прут та Сірет у межах західного регіону України. Обґрунтовано доцільність застосування біотехнологічних прийомів штучного відтворення риб для збереження біологічного різноманіття Карпатського регіону. На основі аналізу актуального стану рибних ресурсів басейнів Пруту, Сірету та Дністра в межах західного регіону України показані можливі шляхи трансформації іхтіокомплексів у коротко та довготривалій перспективі. Розроблено науково-методичне обґрунтування біотехнології штучного відтворення стерляді прісноводної з дністровської популяції *Acipenser ruthenus* Linnaeus, вирезуба причорноморського *Rutilus frisii* (Nordmann), марени звичайної *Barbus barbus* (Linnaeus) задля їх реінтродукції у природні водойми.

В басейнах рік Дністер, Прут та Сірет в межах Карпатського регіону зосереджено 57% видового багатства прісноводної іхтіофауни України.

При цьому тут збереглися популяції видів, які в інших частинах країни стали рідкісними або взагалі зникли. Так, частка раритетного компоненту в іхтіофауні Карпатського регіону складає більше 50%.

Попри значне біорізноманіття, обсяг рибних запасів навіть у найбільш продуктивних водоймах регіону вкрай низький. Аналіз можливих причин ситуації, що склалася, не виявив критичних проблем із забрудненням водного середовища чи в паразитологічній ситуації.

Показано, що потенційна рибопродуктивність, розрахована за рівнем розвитку природної кормової бази, більше, ніж утричі перевищує фактичну. Очевидно, низький рівень рибних запасів спричинений порушенням процесів природного відтворення в популяціях більшості видів риб. Одним з найбільш дієвих шляхів вирішення ситуації, що склалася, є здійснення штучного розмноження в умовах індустріальної аквакультури з подальшою реінтродукцією отриманої молоді у природні гідроекосистеми.

Роботи з реінтродукції доцільно розпочати з видів, які мають не лише високий природоохоронний статус, але і значну господарську цінність. До таких видів в іхтіофауні Карпатського регіону слід віднести стерлядь прісноводну верхньодністровської популяції, туводну форму вирезуба причорноморського та марену звичайну.

На основі проведених розрахунків екологічної ємності гідроекосистем регіону щодо зазначених видів, загальна щорічна потреба у рибопосадковому матеріалі складає 78 млн. екземплярів підрощеної личинки. Проте, технології штучного відтворення вказаних аборигенних видів на сьогодні не розроблені, а ті, що існують, вимагають вдосконалення для отримання рибопосадкового матеріалу із високими адаптивними властивостями для здійснення ефективної реінтродукції у природні водойми.

Враховуючи вище вказане, метою дисертаційної роботи стали розробка та застосування сучасних біотехнологічних підходів задля підвищення ефективності технологій штучного відтворення аборигенних видів риб Карпатського регіону.

Суворі екологічні обмеження, спрямовані на мінімізацію забруднень від рибоводних заводів і аквакультурних господарств в країнах Європи послужили стимулом до швидкого технологічного розвитку установок замкнутого водопостачання (УЗВ). Використання рециркуляційних систем забезпечує можливість повного контролю та корекції умов утримання у відповідності до фізіологічних потреб вирощуваних об'єктів і дозволяє досягнути тим самим максимальної продуктивності на фоні економії води, виробничих площ та мінімізації об'єму стічних вод.

Для проведення експериментальних досліджень по вдосконаленню біотехнологій розведення аборигенних видів риб в Чернівецькому національному університеті була спроектована та створена рибоводна рециркуляційна система, у якій можна виділити 3 основних блоки: рибоводний, представлений 5 басейнами по 2 м³, блок очистки води та водопідготовки – механічний, біологічний та бактерицидний фільтри, а також машинний блок, представлений насосами для циркуляції та компресором для аерації води.

Задля формування ремонтно-маточних стад вище зазначених видів риб, на основі дозволів Міністерства екології та природних ресурсів України з природних умов були вилучені плідники стерляді, вирезуба та марени.

За результатами проведених власних багаторічних іхтіологічних досліджень доведено, що одна з небагатьох природних популяцій стерляді в Україні збереглася в системі верхній Дністер-Дністровське водосховище. Особлива цінність верхньодністровської популяції стерляді зумовлена тим,

що у даній водній системі ніколи не проводилася інтродукція осетрових з використанням вирощеного на рибзаводах чужорідного іхтіологічного матеріалу. Це дозволило зберегти генетичну чистоту аборигенної популяції. За результатами порівняльного аналізу з використанням мікросателітних ДНК-маркерів було показано, що верхньодністровська стерлядь генетично відрізняється від популяцій із сусідніх басейнових систем, зокрема Дніпра та Дунаю.

Утримання вилучених з природи особин в УЗВ дозволило відпрацювати та вдосконалити основні ланки технологічного процесу вирощування аборигенних риб, починаючи від процедури доместикації та закінчуючи реінтродукцією отриманого зарибку та формуванням ремонтно-маточного стада з вирощених вже в неволі особин.

Розроблений технологічний режим переднерестової підготовки дозволяє синхронізувати статеві цикли самців і самок. Апробація різних гонадостимулюючих препаратів, як синтетичного так і природного походження, засвідчила факт відсутності достовірної різниці в ефективності їх використання, що дозволяє замінити дороговартісний осетровий гіпофіз короповим.

В умовах УЗВ самки дністровської стерляді статевої зрілості вперше досягли в 3 роки, тоді як в природі – у 6-7 років. Ефективність запліднення ікри впершенерестуючих самок склала близько 50%, повторнонерестуючих – до 90%.

Личинки дністровської стерляді характеризуються вищими темпами росту, порівняно з личинками стерляді волзької популяції та низькою смертністю. Індекс кумулятивних втрат за перших 24 доби складає всього 13 %. Проте, привертає увагу пік втрат, що припадає на період переходу личинок на екзогенне живлення. Відповідно, подальші дослідження були спрямовані на розробку біотехнології функціональних стартових кормів.

Проблема полягає у відсутності гранульованих кормів, адаптованих під нутрієнтні потреби видів, які тільки вводяться в аквакультуру. В зв'язку з цим, доцільним є застосування живих кормів. Живі корми є не лише джерелом нутрієнтів, але й можуть слугувати засобом доставки в організм личинок риб різноманітних терапевтичних агентів, пробіотиків, есенціальних сполук. Перевагою такої технології введення препаратів або біоінкапсуляції є те, що кормові організми одночасно володіють як поживною цінністю, так і забезпечують «доставку» цільової субстанції.

Універсальним стартовим живим кормом традиційно вважається артемія. Незважаючи на численні технологічні переваги її застосування, проблемою залишається невеликий вміст в їх складі поліненасичених жирних кислот. Для усунення даного недоліку було апробовано застосування двох препаратів з різним співвідношенням докозагексаєнової та ейкозапентаєнової жирних кислот, що дозволило істотно підвищити вміст даних жирних кислот в живих кормах.

При розробці технології біоінкапсуляції необхідно контролювати не лише ефективність накопичення цільового продукту, а й виживаність кормових організмів під час даної процедури. Також важливо, щоб в процесі біоінкапсуляції не втрачались основні нутрієнти. Відповідно, була підібрана оптимальна схема біоінкапсуляції науплій поліненасиченими жирними кислотами при мінімальних втратах кормових організмів та збереженні поживної цінності за вмістом основних нутрієнтів.

Травлення у риб при переході на екзогенне живлення значною мірою забезпечується гідролітичними ферментами спожитого живого корму. Зокрема, протеолітичні ферменти кормових організмів забезпечують первинну активацію зимогенів травних ферментів личинок риб.

Запропоновані схеми біоінкапсуляції не призводять до пригнічення ні протеолітичної активності, ні ліпазної чи амілолітичної активності в живих

кормах. У кінцевому рахунку застосування збагаченої докозагексаєновою та ейкозапентаєновою кислотами артемії забезпечує зменшення смертності личинок стерляді в 2 рази при їх переведенні на зовнішнє живлення.

При великих обсягах отримання рибопосадкового матеріалу, зазвичай, використовуються автоматичні годівниці (так звані автофідери), що цілодобово забезпечують дозовану подачу кормових організмів личинкам вирощуваних риб. Протягом тривалого перебування в автофідерах, внаслідок голодування, частина науплій гине, а в тих, що вижили, знижується поживна цінність. Виходом з даної ситуації може бути сумісне утримання науплій артемії та їх кормових об'єктів – дріжджів, мікроводоростей, або біоінкапсуляція препаратами, виготовленими на їх основі.

Для попередження нутрієнтної депривації живих кормів була проведена оцінка ефективності застосування препаратів на основі дріжджової та водоростевої біомаси. Результати проведених досліджень засвідчили, що в обох випадках вдалося запобігти втраті білку в кормі.

Натомість з огляду на показники смертності не всі концентрації досліджуваних препаратів дають позитивний ефект. Надто високі концентрації препаратів призводять з часом до псування якості води в автоматичних фідерах і, як наслідок, підвищення смертності артемії.

У біотехнології гідробіонтів набувають популярності так звані green water технології. Зокрема, показано, що альголізація середовища внесенням живої культури прісноводної зеленої водорості *Desmodesmus armatus* в автогодівниці до науплій артемії не лише позитивно впливає на виживаність самої артемії, але й збільшення інтенсивності масонакопичення личинок сома європейського в 1,7 рази.

У зв'язку з складністю отримання цист артемії в Україні перспективним є використання як стартового корму прісноводного

зоопланктону. Для здешевлення технології була показана можливість використання скидної води з УЗВ для нарощення біомаси як зоопланктону, так і мікроводоростей, завдяки наявності розчинних форм нітрогену, фосфатів та солей мікроелементів, які надходять у воду з кормом та продуктами життєдіяльності самих риб.

У виробничих умовах важливим фактором є швидке нарощення біомаси кормових організмів у обмежений термін. У зв'язку з цим, було досліджено вплив γ -кротонолактон-вмісного препарату ДОН-1R на продукційні властивості прісноводного зоопланктону, на прикладі культури *S. vetulus*. Застосування даного препарату при культивуванні зоопланктону виявилось ефективним, оскільки сприяє підвищенню питомої швидкості наростання культури кормових організмів вже на початкових етапах культивування.

Оскільки, на відміну від артемії, прісноводний зоопланктон зазвичай бідний на каротиноїди, була доведена доцільність використання каротинсинтезуючих дріжджів роду *Rhodotorula* для насичення каротиноїдами живого корму та розроблено режим проведення даної процедури. Встановлено, що використання виду *Rhodotorula glutinis* дозволило досягнути максимальних показників вмісту сумарних каротиноїдів у живому кормі вже на 4-ту добу, при чому майже у 1,5 рази вище, ніж при застосуванні дріжджів *Rhodotorula rubra*.

Аналіз фракційного складу каротиноїдів у досліджуваному кормовому зоопланктоні, культивованому з використанням каротиногенних дріжджів роду *Rhodotorula* засвідчив переважання частки ксантофілів, серед яких максимум припадає на астаксантин та його моноестери. При цьому родоторули виступають не лише як джерело каротиноїдів, але й як джерело легкозасвоюваних протеїнів. Співвідношення незамінимих амінокислот також залишається практично таким же як і при використанні

як кормового субстрату сахароміцетів. Проте, виявилось, що використання *Rhodotorula glutinis* для підвищення вмісту каротиноїдів супроводжується пригніченням загальної протеазної активності в усіх досліджуваних діапазонах рН. Очевидно, це пов'язано з тим, що саме цей вид дріжджів продукує інгібітори протеїназ, зокрема карбоксипептидаз.

Стимулювання каротиногенезу у родоторул супроводжується пригніченням темпів нагромадження біомаси. Застосування методів кокультивування родоторул з молочнокислими бактеріями дозволяє ефективно утилізувати карбоновмісні субстрати, зокрема молочної сироватки. З іншого, боку важливість формування асоціацій даних організмів обумовлена пробіотичними властивостями молочнокислих бактерій. Проведений скринінг біохімічної активності культур молочнокислих бактерій, попередньо виділених зі слизових оболонок травного тракту осетрових, дозволив виявити культуру, яка володіла високими адгезивними та антагоністичними властивостями. Її застосування призвело до покращення динаміки наростання культур та посилення каротиногенезу, зокрема за рахунок бета-каротину, толулародину та толуліну.

Введення в корми лактобактерій в кінцевому результаті мало позитивний вплив на ростові процеси в личинок риб. При цьому спостерігається пригнічення небажаної мікрофлори як в організмі риб, так і в воді, де вони вирощуються.

Серед лімітуючих факторів у культивуванні водних організмів є накопичення в середовищі як кінцевих метаболітів амоній-іону та продуктів його окислення. Якщо в УЗВ за це відповідає біофільтр, то при періодичному культивуванні кормового зоопланктону дана проблема вирішується заміною середовища.

За результатами проведених досліджень встановлено, що використання базальтового туфу забезпечує підвищення інтенсивності нарощення культури *Moina macroscopa*. Максимальна щільність культур, які вирощували із використанням туфу в усіх досліджуваних концентраціях була у 2 рази вищою за контроль. Даний ефект можна пояснити високими адсорбтивними властивостями туфу, який ефективно поглинає з води розчинні форми нітрогену, особливо нітрит-іонів.

Відомо, що підвищена концентрація нітритів у воді, викликана розбалансуванням роботи біологічного фільтра, може призвести до швидкого та критичного накопичення метгемоглобіну в крові риб. Високі концентрації нітритів пригнічують роботу ензиматичних ланок відновлення метгемоглобіну та антиоксидантної системи, проте пріоритетними у відновленні MtHb та забезпеченні антиоксидантного захисту стають неензиматичні механізми за участю низькомолекулярних сполук, таких як відновлений глутатіон та аскорбат. Тому для запобігання нітритно-амонійної інтоксикації риб за умов щільної посадки необхідне обов'язкове введення в раціон вітаміну С.

Оскільки, використання туфу призводить до достовірного зниження концентрації розчинних форм азоту не лише при культивуванні зоопланктону, а й під час утримання риб, базальтовий туф із родовища «Полицьке-2» можна рекомендувати до застосування як наповнювач для фільтра в установках замкнутого водопостачання.

Запропоновані біотехнологічні підходи до збереження та відтворення рибних ресурсів забезпечили можливість сформувати репродуктивні стада аборигенних видів риб в умовах індустріальної аквакультури, отримати зарібок та провести зариблення Дністра та Дністровського водосховища.

Ключові слова: біотехнологія, індустріальна аквакультура, штучне відтворення, біоінкапсуляція, реінтродукція

SUMMARY

Khudyi Oleksii Ihorovych. Biotechnological bases of fish resources conservation and reproduction in the water bodies of the Carpathian region. – Qualifying scientific work on the rights of manuscript.

The thesis for a scientific degree of the Doctor of biological sciences by specialty 03.00.20 – biotechnology. – The National Technical University of Ukraine «Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute» of the Ministry of Education and Science of Ukraine, 2019. Thesis was performed at Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine.

The thesis is devoted to scientific substantiation of the use of biotechnological bases for fish resources preservation and reproduction in the reservoirs of the Carpathian region.

The current state of ichthyocenoses in the basins of Dniester, Prut and Siret rivers within the western region of Ukraine is considered. The expediency of biotechnological methods application for artificial reproduction of fish in the measures to preserve biological diversity of the Carpathian region is substantiated. Based on the analysis of the current state of the fish resources in Prut, Siret and Dniester basins within the western region of Ukraine, the possible ways of transformation of ichthyocomplexes in the short and long terms are shown. The scientific and methodological substantiation of biotechnology for artificial reproduction of the sterlet *Acipenser ruthenus* Linnaeus from the Dniester population, *Rutilus frisii* (Nordmann), common barbel *Barbus barbus* (Linnaeus) for their reintroduction in natural reservoirs has been developed.

In the basins of Dniester, Prut and Siret rivers within the Carpathian region, 57% of the species richness of the freshwater ichthyofauna of Ukraine is concentrated. Besides, populations of species, which in other parts of the

country have become rare or even disappeared, are preserved here altogether. Thus, the share of the rare component in the ichthyofauna of the Carpathian region is more than 50%.

Despite significant biodiversity, the volume of fish stocks, even in the most productive reservoirs of the region is extremely low. The analysis of the possible causes of the current situation did not reveal any critical problems with the pollution of the water environment or in the parasitological situation.

It is shown that the potential fish productivity, calculated by the development level of the natural forage base, is more than three times the actual. Obviously, the low level of fish stocks is caused by violation of natural reproduction processes in populations of most fish species. One of the most effective ways of solving the current situation is the implementation of artificial reproduction under conditions of industrial aquaculture with the subsequent reintroduction of fish youth in the natural hydroecosystems.

It is expedient to begin the reintroduction work from species that have not only high conservation status but also significant economic value. Such species in the ichthyofauna of the Carpathian region should include the sterlet of the upper Dniester population, the non-anadromous form of *Rutilus frisii* and common barbel.

Based on the calculations of the ecological capacity of the hydroecosystems of the region in respect of these species, the total annual requirement for fish stock is 78 million individuals of the grown fish larva. However, the technologies of artificial reproduction of these aboriginal species have not been developed for today, and those that exist require improvement to produce fish-planting material with high adaptive properties for effective reintroduction in natural reservoirs.

Taking into account the above mentioned, the aim of thesis was to develop and apply modern biotechnological approaches to increase the efficiency of

artificial reproduction technologies of aboriginal fish species of the Carpathian region.

Strict environmental restrictions aimed at minimizing pollution from fish farms and aquaculture industry in the Europe countries served as an incentive for rapid technological development of RAS. The use of recirculating systems provides the possibility of full control and correction of the retention conditions in accordance with the physiological needs of cultivated organisms, and thus allows achieving maximum productivity against the background of water saving, production space and minimization of wastewater.

In order to carry out experimental research on the improvement of biotechnologies for the cultivation of aboriginal fish species in Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University, a recirculating aquaculture system was designed and established, in which it is possible to distinguish 3 main blocks: fish-breeding, represented by 5 basins of 2 m³, a unit of water purification and water preparation – mechanical, biological and bactericidal filters, as well as a machine block, presented by pumps for circulation and a compressor for aeration of water.

For the purpose of formation of broodstock herds of the aforesaid fish species, the sterlet, *Rutilus frisii* and common barbel were removed from the natural conditions on the basis of the permissions of the Ministry of Ecology and Natural Resources of Ukraine.

According to the results of our own long-term ichthyological research, it has been proved that one of the few natural populations of sterlet in Ukraine has been preserved in the upper Dniester River – Dniester Reservoir system. The special value of the upper Dniester population of sterlet is due to the fact that no introduction of sturgeons was ever performed in this water system using alien ichthyological material grown at fish farms. This allowed to maintain the genetic purity of the aboriginal population. According to the results of the comparative

analysis using microsatellite DNA markers, it has been shown that Upper Dniester sterlet is genetically different from populations from adjacent basin systems, in particular, Dnieper and Danube.

The maintenance of individuals, removed from the nature, in the RAS allowed to develop and improve the basic links of the technological process of cultivating aboriginal fish, from the procedure of domestication to the reintroduction of the received fish stock and the formation of a broodstock herd from individuals already grown in the captivity.

The developed technological regime of pre-spawning stage allows to synchronize the sexual cycles of males and females. Testing of various gonad-stimulating drugs, both synthetic and natural origin, showed the absence of a significant difference in the effectiveness of their use, which allows replacing the expensive sturgeon hypophysis with carp.

The females of Dnieper sterlet at the first time reached their puberty period after 3 years under conditions of RAS, while in nature – in 6-7 years. The effectiveness of caviar fertilization in firstly-spawning females was about 50%, re-spawning – up to 90%.

The larvae of the Dniester sterlet are characterized by higher rates of growth and lower mortality, compared with the sterlet larvae of Volga population. The index of cumulative losses in the first 24 days is only 13%. However, attention is drawn to the peak of losses incurred during the transition period of larvae to exogenous nutrition. Accordingly, further research was aimed at developing the biotechnology of functional starting feeds.

The problem is the absence of granulated feed adapted for the needs of species that are just introduced into aquaculture. In this regard, it is expedient to use live feeds. Live feeds are not only a source of nutrients, but can also serve as a way to delivery of various therapeutic agents, probiotics, essential compounds to the fish larvae body. An advantage of such technology of drugs introduction

or bioincapsulation is that fodder organisms simultaneously possess both nutritional value and provide «delivery» of the target substance.

Artemia is traditionally considered to be a universal starter live feed. Despite the numerous technological advantages of its application, the problem remains in a small content of polyunsaturated fatty acids in its composition. To overcome this shortcoming, the use of two drugs with different ratios of docosahexaenoic and eicosapentaenoic fatty acids has been tested, which has allowed to significantly increase the content of these fatty acids in live feeds.

While developing bioencapsulation technology, it is necessary to control not only the efficiency of target product accumulation, but also the survival of fodder organisms during this procedure. It is also important that the main nutrients are not lost during the bioencapsulation process. Accordingly, an optimal scheme for *Artemia* nauplii bioencapsulation with polyunsaturated fatty acids at the background of minimal losses of fodder organisms and preservation of the nutritional value by the content of the main nutrients was selected.

Fish digestion during their transition to exogenous nutrition is largely provided by hydrolytic enzymes of consumed live feed. In particular, proteolytic enzymes of fodder organisms provide primary activation of zymogen digestive enzymes of fish larvae.

The proposed schemes of bioencapsulation do not lead to inhibition of either proteolytic activity or lipase and amylolytic activity in live feeds.

Ultimately, application of *Artemia* enriched with docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids provides 2 times reduction in the mortality of sterlet larvae during their transition to external nutrition.

In large volumes of fish stock obtaining, usually, automatic feeders are used, which provides a metered feed supply to larvae of farmed fish for 24 hours. During a long stay in automatic feeders, a part of the nauplii dies as a result of starvation, and in those who survived, the nutritional value decreases.

The way out of this situation can be the joint maintenance of *Artemia* nauplii and their fodder objects - yeast, microalgae or bioincapsulation with drugs made on their basis.

An evaluation of the effectiveness of the drugs based on yeast and algal biomass was carried out to prevent the nutritional deprivation of live feeds. The results of the conducted studies have shown that in both cases, it was possible to prevent the loss of protein in the feed.

Instead, due to mortality rates, not all concentrations of investigated drugs have a positive effect. Too high concentrations of drugs eventually lead to deterioration of water quality in the feedboxes and as a consequence to increased *Artemia* mortality.

In biotechnology of hydrobionts the so-called green water technologies are gaining popularity. In particular, it has been shown that the algalization of the medium by introducing of the living culture of freshwater algae *Desmodesmus armatus* in automatic feeders to *Artemia* nauplii not only positively affects on the survival of *Artemia* itself, but also increases the intensity of biomass accumulation of larvae of European catfish by 1.7 times.

In accordance with the complexity of *Artemia* cyst obtaining in Ukraine, a freshwater zooplankton is a promising to use as a starter feed. In order to reduce the cost of technology, it was demonstrated the use of waste water from RAS for the biomass growth of both zooplankton and algae due to the presence of soluble forms of nitrogen, phosphates and salts of trace elements entering the water with feeds and products of fish livelihoods.

Under industrial conditions, an important factor is the rapid increasing in the biomass of fodder organisms for a limited period. In this regard, the effect of γ -crotonolactone-containing drug DON-1R on the reproductive capacities of freshwater zooplankton, on the example of *S. vetulus* culture, was investigated. The use of this drug in the cultivation of zooplankton proved to be effective,

since it contributes to the increase of the specific growth rate of the culture of fodder organisms already at the initial stages of cultivation.

Since, unlike *Artemia*, freshwater zooplankton is usually deficient in carotenoids content, the expediency of carotene-producing yeast usage of the genus *Rhodotorula* to saturate live feeds with carotenoids was proved and the mode of this procedure was developed. It has been established that the use of *Rhodotorula glutinis* species allowed to reach the maximum indices of the total carotenoids content in live feed for the 4th day, which is almost 1.5 times higher than with the use of yeast *Rhodotorula rubra*.

The analysis of the fractional composition of carotenoids in the investigated feed zooplankton, cultivated using carotenogenic yeast of the genus *Rhodotorula*, showed a predominance of the xanthophylls fraction, among which astaxanthin and its monoesters dominate. At the same time *Rhodotorula* yeast serve not only as a source of carotenoids, but also as a source of easily digestible proteins. The ratio of essential amino acids also remains virtually the same as while using of *Saccharomyces cerevisiae* as a feed substrate. However, it turned out that the use of *R. glutinis* to increase the carotenoid content is accompanied by inhibition of total protease activity in all studied pH ranges. Apparently this is due to the fact that this species of yeast produces proteinase inhibitors, in particular carboxypeptidases.

Stimulation of carotenogenesis in *Rhodotorula* yeast is accompanied by inhibition of the biomass accumulation rate. The use of co-cultivation methods of yeast with lactic acid bacteria allows efficient disposal of carbon-containing substrates, in particular, of milk whey. On the other hand, the importance of forming associations of these organisms is due to probiotic properties of lactic acid bacteria. The screening of biochemical activity of lactic acid bacteria cultures, previously isolated from the mucous membranes of the sturgeon digestive tract, allowed to reveal a culture that possessed high adhesive and

antagonistic properties. Its application has led to an improvement in the dynamics of cultures growth and increased carotenogenesis, in particular due to beta-carotene, torularhodine and torolulene synthesis.

The introduction of lactobacilli positively influenced the growth processes in fish larvae in the final result. At the same time there is a suppression of pathogenic and conditionally pathogenic microflora in the fish organism and in the water where they were grown.

One of the limiting factors in the cultivation of aquatic organisms is accumulation of ammonium ion and products of its oxidation as the terminal metabolites in the medium. If the biofilter of RAS is responsible for their utilization, then during periodic cultivation of fodder zooplankton this problem is solved by the replacement of the medium.

According to the results of the conducted research, the use of basaltic tuffs provides an increase in the growth intensity of *M. macrocopa* culture. The maximum density of cultures grown using tuff at all studied concentrations was 2 times higher than control. This effect can be explained by high adsorption properties of tuff, which effectively absorbs soluble forms of nitrogen, especially nitrite ions from the water.

It is known that the increased concentration of nitrites in water, caused by the imbalance of the biological filter's work, can lead to a rapid and critical accumulation of methemoglobin in the blood of fish. High concentrations of nitrites inhibit the work of the enzymatic recovery units of methemoglobin and an antioxidant system, but non-enzymatic mechanisms involving low molecular weight compounds such as reduced glutathione and ascorbate are a priority in restoring MtHb and providing antioxidant protection. Therefore, for the prevention of nitrite-ammonia intoxication of fish under conditions of high density retention, mandatory introduction of vitamin C into the diet is necessary.

Since the use of tuff leads to a significant decrease in the concentration of soluble forms of nitrogen, not only when cultivating zooplankton, but also during fish retention, basalt tuff from «Polytske-2» basalt deposit can be recommended for use as a filter filler in recirculating aquaculture systems.

The proposed biotechnological approaches to the conservation and reproduction of fish resources provided the opportunity to form reproductive herds of indigenous fish species under conditions of industrial aquaculture, to get fish stocking material for Dniester and Dniester reservoir.

Keywords: biotechnology, industrial aquaculture, artificial reproduction, bioincapsulation, reintroduction

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ ПРАЦЬ

Монографії та розділи в монографіях:

1. **Khudyi O.**, Khuda L. Występowanie ryb jesiotrowatych w basenie Dniestru // Actualny stan i ochrona naturalnych populacji ryb jesiotrowatych Acipenseridae, 2014. – Olsztyn: Instytut Rybactwa Srodladowego. – S. 53–59. – *Здобувачем здійснено літературний пошук, проаналізовані власні дослідження, участь в написанні статті.*
2. Khuda L., **O. Khudyi** Nitrite-induced methemoglobinemia of freshwater fishes reared in recirculating aquaculture systems / Recirculation technologies in indoor and outdoor systems. Handbook. – Szarvas: HAKI, 2013. – P.22–30. – *Здобувачем виконана частина експериментальних досліджень, здійснена статистична обробка результатів, обговорено та узагальнено результати.*
3. Скільський І.В., Хлус Л.М., Череватов В.Ф., Смірнов Н.А., Чередарик М.І., **Худий О.І.**, Мелешук Л.І. Червона книга Буковини. Тваринний світ. – Чернівці: ДрукАрт, 2007. – Т.2, ч. 1. – 260 с. – *Здобувачем написаний розділ щодо іхтіофауни Буковини.*

Статті у фахових закордонних виданнях

4. Kolman R., **Khudyi O.**, Kushniryk O., Khuda L, Prusinska M, Wiszniewski G. Influence of temperature and Artemia enriched with ω -3 PUFAs on the early ontogenesis of Atlantic sturgeon, *Acipenser oxyrinchus* Mitchill, 1815 // Aquaculture Research. – 2018. – 49 (5). – P. 1740–1751. – (**Scopus, Web of Science**) – *Здобувачем здійснено планування експерименту, проведений аналіз отриманих даних, написання статті.*
5. Zvarych V., Nakonechna A., Marchenko M., **Khudyi O.**, Lubenets V., Khuda L., Kushniryk O., Novikov, V. Hydrogen Peroxide Oxygenation of Furan-2-carbaldehyde via an Easy, Green Method // Journal of Agricultural

- and Food Chemistry. – 2019. – 67. – P. 3114–3117. – (**Scopus, Web of Science**) – *Здобувачем обґрунтована доцільність застосування препарату для інтенсифікації ростових процесів у риб.*
6. Prusińska M., **Khudiyi O.**, Kolman R., Khuda L., Duda A., Wiszniewski G., Marchenko M., Kushniryk O. Impact of a polyunsaturated fatty acid supplement on enriching the nutritional value of brine shrimp nauplii, *Artemia* sp. //Fish. Aquat. Life. – 2018. – 26. – P. 173–184. – (**Scopus**) – *Здобувачем здійснено керування проведенням експерименту, статистичний аналіз отриманих даних, підготовку статті.*
 7. **Khudiyi O.**, Kushniryk O., Khuda L., Marchenko M. Differences in nutritional value and amino acid composition of *Moina macroscopa* (Straus) using yeast *Saccharomyces cerevisiae* and *Rhodotorula glutinis* as fodder substrates // International Letters of Natural Sciences. – 2018. – 68. – P.27–34. – (**Web of Science**) – *Здобувачем здійснено планування експерименту, проведено аналіз отриманих даних.*
 8. **Khudiyi O.**, Khuda L., Kushniryk O., Prusinska M., Kolman R., Marchenko M. An effectiveness of artemia nauplii enrichment with polyunsaturated fatty acids using a supplement Easy DHA Selco // Acta Biol. Univ. Daugavp. – 2017. – 17 (2). – P. 169–183. – (**Web of Science: BIOSIS Previews**) – *Здобувачем здійснено розробку схеми експерименту, виконано частину досліджень, проведено аналіз отриманих даних.*
 9. **Khudiyi O.**, Marchenko M., Cheban L., Khuda L., Kushniryk O., Malishchuk I. Recirculating aquaculture systems waste water as a medium for increase of phytoplankton and zooplankton biomass // International Letters of Natural Sciences. – 2016. – 54. – P. 1–7. – (**Web of Science**) – *Здобувачем здійснено планування експерименту, аналіз отриманих даних.*
 10. Prusińska M., Kushniryk O., **Khudiyi O.**, Khuda L., Kolman R. Impact of enriching larval brine shrimp (*Artemia* sp.) with a supplement containing

- polyunsaturated fatty acids on their growth and mortality // Archives of Polish Fisheries. – 2015. – 23 (3). – P. 149–154. – (**Scopus**) – *Здобувачем здійснено статистичний аналіз отриманих даних, написання статті.*
11. Khuda L., **Khudyi O.**, Marchenko M. Peculiarities of methemoglobin recovery system in erythrocytes of sterlet under nitrite intoxication // Inland Water Biology. – 2015. – 8 (2). – P. 195–199. – (**Scopus, Web of Science**) – *Здобувачем проведено частину експериментальних досліджень, здійснено статистичну обробку та аналіз результатів.*
 12. Kushniryk O., **Khudyi O.**, Khuda L., Kolman R., Marchenko M. Cultivating *Moina macroscopa* Straus in different media using carotenogenic yeast *Rhodotorula* // Archives of Polish Fisheries. – 2015. – 23 (1). – P. 37–42. – (**Scopus**) – *Здобувачем здійснено планування експерименту, аналіз отриманих даних та написання статті.*
 13. **Khudyi O.**, Kolman R., Khuda L., Marchenko M., Terteryan L. Characterization of growth and biochemical composition of sterlet, *Acipenser ruthenus* L., juveniles from the Dniester population reared in RAS // Archives of Polish Fisheries. – 2014. – 22 (4). – P. 249–256. – (**Scopus**) – *Здобувачем здійснено розробку схеми експерименту, проведено аналіз результатів та написання статті.*
 14. **Khudyi O.**, Kobasa I., Kushniryk O., Khuda L. The application of basaltic tuffs in the technology of cultivation the live feed for fish – preliminary study // Food and Environment Safety. – 2015. – 14 (4). – P. 368–374. – (**EBSCO**) – *Здобувачем здійснено планування експерименту, проведений аналіз та узагальнення отриманих результатів.*
 15. Kolman R., **Chudy O.**, Terteryan L. Zarybienie narybkem sterlata gornego Dniestru // Komunikaty rybackie. – 2013. – № 5. – S. 15–16. – (**Index Copernicus Int.**) – *Здобувачем здійснено відлов плідників, організацію зариблення, участь в написанні статті.*

16. Kolman R., **Khudyi O.**, Zubkova E., Wiszniewski G., Duda A. Perspektywy odbudowy naturalnej populacji sterleta *Acipenser ruthenus* L. w basenie Dniestru Komunikaty rybne. – 2016. – № 4. – S. 34–37. – (**Index Copernicus Int.**) – *Здобувачем запропоновані концептуальні підходи стратегії відтворення стерляді в Дністрі, участь в написанні статті.*
17. **Худый А.И.** Адаптивные изменения в экстерьере вырезуба в связи с зарегулированием предгорного участка Днестра // Вопросы рыбного хозяйства Беларуси. – 2018. – Вып. 34. – С. 268–275.
18. **Худый А.И.**, Кушнирык О.В. Сравнительная характеристика сезонной динамики развития сообществ зоопланктона в системе рыбохозяйственный пруд-река // Экологический мониторинг и биоразнообразие. – 2011. – 6 (1). – С. 52–55. – *Здобувачем здійснено збір матеріалу, обраховані кількісні показники розвитку угруповань зоопланктону, проаналізовано отримані результати.*
19. **Худый А.И.** Морфо-экологические адаптации леща (*Abramis brama* L.) в условиях зарегулирования предгорного участка Днестра // Buletin stiintific. Etnografie, stiintele naturii si muzeologie. Serie noua. Stiintele naturii. – Chisinau, 2007. – № 6 (19). – P. 104–109.

Статті у вітчизняних фахових виданнях, які індексуються в міжнародних наукометричних базах:

20. **Khudyi O.I.**, Cheban L.M., Khuda L.V., Dzhuravets, Y., Shershen, T., Sumyk, Y., Kushniryk O., Prusinska, M. Effect of algal monocultures and combined algal drug on the survival of *Artemia* nauplii // Scientific Herald of Chernivtsy University. Biology (Biological Systems). – 2018. – 10 (2). – 125–129. – (**Index Copernicus Int.**) – *Здобувачем висунуто ідею використання монокультур водоростей та альгопрепаратів, проведена частина досліджень з визначення розмірних характеристик науплій, проаналізовано результати.*

21. Галоян Л. Л., Худий О. І., Тертерян С. В., Мрук А. І., Худа Л. В. Застосування продукційних кормів різних виробників при вирощуванні райдужної форелі в умовах індустріальної аквакультури // Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи). – 2016. – 8 (2). – С. 15–19. – (**Index Copernicus Int.**) – *Здобувачем здійснено аналіз, обговорення та узагальнення отриманих результатів, написання статті.*
22. Худий О. І., Худа Л. В., Голубєв М. І., Бабин В. О., Джуравець Ю. Ю. Лабораторне виготовлення гранульованих кормів-основ для вивчення ефекту біологічно активних добавок при вирощуванні осетрових риб // Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи). – 2016. – 8 (1). – С. 15–19. – (**Index Copernicus Int.**) – *Здобувачем здійснено планування експерименту, узагальнення отриманих результатів, написання статті.*
23. Кушнірик О. В., Худий О. І., Худа Л. В. Гідролітична активність та поживна цінність *Simoscephalus vetulus* (Muller) при культивуванні з різними кормовими субстратами // Вісник Одеського національного університету. Серія: Біологія. – 2015. – Том 20, Вип. 1(36). – С. 115–120. – (**Index Copernicus Int.**) – *Здобувачем здійснено розробку ідеї досліджень, запропонована схема експерименту, проведено узагальнення результатів.*

Статті у вітчизняних фахових виданнях:

24. Худий О. І., Худа Л. В., Цапок О. Л. Характеристика ростових процесів вирезуба *Rutilus frisii* (Nordmann) в умовах Дністровського водосховища // Доповіді НАН України. – 2008. – №7. – С. 175–178. – *Здобувачем здійснено збір матеріалу, проведена статистична обробка результатів, написання статті.*

25. Кушнірик О.В., **Худий О.І.** Амінокислотний склад *Simoccephalus vetulus* (Muller) за умов використання різних видів дріжджів як кормових субстратів // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. – 2015. – 3-4 (64). – С. 388–391. – *Здобувачем проаналізовані та обговорені отримані результати.*
26. Худа Л., Прусінська М., **Худий О.**, Кушнірик О.В., Кольман Р., Липка Н.П. Застосування препаратів поліненасичених жирних кислот у технології раннього вигодовування осетрових риб // Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи). – 2015. – 7 (2). – С. 163–170. – *Здобувачем підготовлені зразки для визначення жирнокислотного профілю личинок осетрів, здійснено статистичну обробку даних, обговорення результатів.*
27. Кушнірик О. В., Марченко М. М., **Худий О. І.**, Васіна Л. М., Худа Л. В., Кавуля О. М. Застосування каротинсинтезуючих дріжджів *Rhodotorula glutinis* для культивування *Simoccephalus vetulus* Muller у лабораторних умовах // Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи). – 2014. – 6 (1). – С.25–30. – *Здобувачем здійснено обговорення та написання відповідних розділів статті.*
28. Худа Л. В., Марченко М. М., **Худий О. І.** Інтенсивність окислювальних процесів у еритроцитах коропа за умов нітритної інтоксикації // Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи). – 2013. – 5 (1). – С.16–21. – *Здобувачем проведено частину експериментальних досліджень, проведена статистична обробка та обговорення результатів.*
29. Худа Л. В., Марченко М. М., Хачман Я. Ю., **Худий О. І.** Вплив нітритної інтоксикації на систему відновлення метгемоглобіну в еритроцитах карася сріблястого // Науковий вісник Чернівецького

- університету. Біологія (Біологічні системи). – 2012. – 4 (4). – С. 394–397.
– *Здобувачем проведено частину експериментальних досліджень, проведена статистична обробка та обговорення результатів.*
30. **Худий О. І.**, Корчак Л. М., Худа Л. В. Характеристика гідроекологічних умов та структури іхтіокомплексу Дністровського водосховища в контексті відновлення промислового освоєння рибних запасів // Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи). – 2010. – 2 (1). – С. 70–72. – *Здобувачем здійснено визначення гідрохімічних показників, проведено збір іхтіологічного матеріалу, обговорені результати.*
31. **Худий О. І.**, Корчак Л. М. Адаптивні зміни в екстер'єрі окуня (*Perca fluviatilis* Linnaeus) на зарегулювання течії в умовах передгірської ділянки середнього Дністра // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету ім. Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. – 2008. – 3 (37). – С. 169–171. – *Здобувачем здійснено збір та камеральну обробку матеріалу, обговорені та узагальнені результати.*
32. Гарматюк О. М., **Худий О. І.** Попередні дослідження показників зараження риб водойм Буковини паразитами *Ligula intestinalis* (Linnaeus) та *Pomphorhynchus laevis* (Muller) // Науковий вісник Чернівецького університету. Серія: Біологія. – 2007. – Вип. 343. – С. 22–29. – *Здобувачем проведено збір іхтіологічного матеріалу, проведено аналіз та обговорення результатів, написання статті.*
33. **Худий О. І.**, Клепач Д. В. Іхтіофауна малих рік басейну Прута в межах Чернівецької області // Науковий вісник Чернівецького університету. Серія: Біологія. – 2006. – Вип. 293. – С. 3–7. – *Здобувачем здійснено збір частини матеріалу, обговорення та написання статті.*

34. **Худий О.І.** Особливості зміни екстер'єру плітки (*Rutilus rutilus* L.) внаслідок зарегулювання передгірської ділянки течії Дністра // Наукові записки Тернопільського національного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. – 2005. – 3 (26). – С.463–465.

Статті в інших наукових виданнях:

35. **Худий О. І.** Поширення «червонокнижних» видів риб в басейнах Дністра, Пруту та Сірету в межах західного регіону України // Матеріали до 4-го видання Червоної книги України. Тваринний світ / Серія: «Conservation Biology in Ukraine». – Вип. 7, Т. 2. – Київ, 2018. – С. 339–346.
36. Костоусов В. Г., Корабельникова О. В., **Худый А. И.** О возможности реституции вырезуба (*Rutilus frisii*, Nordman) в бассейне верхнего Днепра / Костоусов В.Г. // Актуальные проблемы зоологической науки в Беларуси: Сборник статей XI Зоологической Международной научно-практической конференции, приуроченной к десятилетию основания ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам» (Беларусь, Минск, 1-3.11.2017 г.). – Т.1. – Минск: Издатель А.Н. Вараксин, 2017. – С. 204–213. – *Здобувачем проведено збір даних з території України.*
37. **Khudyi O.** Fish biodiversity of the Dniester, Prut and Siret basin systems within western region of Ukraine // Academician Leo Berg – 140: Collection of Scientific Articles. – Chisinau: Eco-TIRAS, 2016. – P. 557–561.
38. **Khudyi A., Khuda L.** Dniestro baseino sterlės biologija // Eršketinės žuvis. Praeitis, dabartis ir ateitis. – Vilnius, 2014. – P. 32–36. – *Здобувачем здійснено літературний пошук, проаналізовані власні дослідження, участь в написанні статті.*
39. Гарматюк О. М., **Худый А. И.** Анализ состояния изученности ихтиопаразитофауны реки Днестр // Поведение, экология и эволюция животных: монографии, статьи, сообщения. Сб. научных трудов РГУ

имени С.А. Есенина (Серия Зоологическая). Т. 3. – Рязань: НП «Голос губернии», 2012. – С. 267–287 – *Здобувачем здійснено літературний пошук, узагальнення результатів.*

- 40.Худая Л. В., **Худый А. И.** Характеристика гидрохимического режима верховий Днестровского водохранилища // Академику Л.С. Бергу – 135 лет: Сборник научных статей. – Бендеры: Есо-TIRAS, 2011. – С.191–194. – *Здобувачем проведено частину гідрохімічних досліджень, обговорення результатів, написання статті.*
- 41.**Худий О.** Сучасний стан іхтіоценозів транскордонних водотоків Чернівецької області // Україна – Румунія: транскордонне співробітництво. Збірник наукових праць. – Чернівці: Рута, 2007. – С.209–220.

Патенти:

- 42.Патент на корисну модель № 101103. С12N 1/12 Спосіб культивування фітопланктону / Марченко М.М., **Худий О.І.**, Чебан Л.М., Худа Л.В., Маліщук І.В; опуб. Бюл. № 16/2015, від 25.08.2015 – *Здобувачем запропонований концептуальний підхід до організації дослідження, участь в обговоренні результатів.*
- 43.Патент на корисну модель № 104602. А01К 67/033 Спосіб культивування зоопланктону на скидній воді із рибоводної установки / Марченко М.М., **Худий О.І.**, Худа Л.В., Чебан Л.М., Кушнірик О.В; опуб. Бюл. № 3/2016, від 10.02.2016 – *Здобувачем здійснено планування дослідження, участь в обговоренні результатів.*
- 44.Патент на корисну модель № 121772. А01К 61/20, С12N 1/11 Спосіб вирощування *Daphnia magna* (Srtaus, 1820) сумісно з кормовим субстратом (мікроводоростями) / Марченко М. М., Чебан Л. М., Гринько О. Е., **Худий О. І.**, Кушнірик О. В., Худа Л. В., Дорош І. В. /

Бюл. № 23 від 11.12.2017 – Здобувачем здійснено планування дослідження, участь в обговоренні результатів.

Матеріали наукових конференцій, конгресів, симпозіумів та з'їздів:

45. **Khudiyi O.**, Grynko O. Structure of Fish Fry Communities in the Dniester Reservoir in 2017 // The 4th International Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB 2018) (3–6 July 2018, Kyiv). – Kyiv, 2018. – P. 402. – *Здобувачем проведено частину польових досліджень, визначення видів малька, написання тез.*
46. Kushniryk O., **Khudiyi O.**, Khuda L., Marchenko M., Novikov V. Application of DON-1R drug in the technology of live feed cultivation for fishes // Ukr. Biochem. J. – 2017. –89 (3). – P. 71. – *Здобувачем здійснено планування експерименту, узагальнення результатів дослідження, написання тез.*
47. Кушнірик О. В., **Худий О. І.**, Худа Л. В. Вміст каротиноїдів у *Moina macroscopa* (Straus, 1820) за умов вигодовування каротинсинтезуючими дріжджами *Rhodotorula glutinis* та *Rhodotorula rubra* // Ukr. Biochem. J. – 2014. – 86 (5). (Supplement 2). – P. 199–200. – *Здобувачем розроблена схема експерименту, проведено обговорення результатів, написання тез.*
48. **Khudiyi O.**, Kushniryk O., Khuda L., Prusinska M., Kolman R. Impact of ω -3 PUFA bioencapsulation technology on the growth and survival rate of artemia nauplii // 2nd International Aquaculture Conference “Recirculating Aquaculture Systems (RAS): Life Science and Technologies” (2017.05.04). Book of Abstracts. – Daugavpils: Daugavpils University Academic Press “Saule”, 2017. – P.27–28. – *Здобувачем розроблена схема експерименту, проведено лабораторні дослідження, обговорені та узагальнені результати.*

49. **Khudyi O.**, Marchenko M., Khuda L., Kushniryk O., Babyn V. The fatty acids profile of krill meal produced in Ukraine // State and prospects of food science and industry: Book of abstracts of the IV International Scientific and Technical Conference (Ternopil, 11–12 October 2017). – Ternopil: Publishing TNTU Ivan Puluj, 2017 – P. 149–150. – *Здобувачем виконана частина експериментальних досліджень, узагальнено результати, участь у написанні тез.*
50. **Худий О.**, Кольман Р., Худа Л., Кушнірик О., Прусінська М., Чебан Л., Дуда А. Смертність та розміри науплій артемії за умов використання дріжджового препарату NUPRO // Проблеми функціонування та підвищення біопродуктивності водних екосистем: матеріали II Міжнародної науково-практичної конференції (12–15 вересня 2017р., м. Дніпро). – Дніпро: Вид-во ПЦ «Формат», 2017. – С.75–77. – *Здобувачем розроблена схема експерименту, здійснена статистична обробка результатів та проведено їх обговорення.*
51. Худа Л.В., Кушнірик О.В., **Худий О.І.** Амінокислотний профіль кормового зоопланктону *Moina macroscopa* та *Moina micrura* // Тернопільські біологічні читання – Ternopil Bioscience –2017. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю (20-22 квітня 2017 р., Тернопіль). – Тернопіль: ТОВ «Терно-граф», 2017. – С.151–155. – *Здобувачем сплановано експеримент, обговорено результати.*
52. Доманчук А.Г., Коржик В.П., **Худий О.І.** Відтворення аборигенних видів риб у Дністрі: перші кроки // Регіональні аспекти флористичних і фауністичних досліджень: матеріали Четвертої міжнар. наук.-практ. конф. (28–29.04.2017) – Чернівці: Друк Арт, 2017. – С. 7–14. – *Здобувачем проведено польові дослідження та розрахунок обсягів зариблення, написання матеріалів.*

53. Kolman R., **Khudyi O.**, Zubcov E. Endangered species of sturgeon require active protection – restitution starlet population in the Dniestr // 9-th International Conference of Zoologist “Sustainable use, protection of animal world and forest management in the context of climate change”: dedicated to the 70th anniversary from the creation of the first research institutions and 55th of the inauguration and foundation of the Academy of Science of Moldlva, 12–13 October, Chisinau. – Chişinău: S.n., 2016. – P. 209–210. – *Здобувачем запропонована стратегія відтворення стерляді в Дністрі, участь в написанні тез.*
54. Kushniryk O., Prusinska M., **Khudyi O.**, Khuda L., Kolman R., Duda A., Wiszniewski G. Effect of *Artemia* nauplii bioencapsulation with PUFA on fatty acids profile of *Acipenser oxyrinchus* larvae // Abstracts. The 9th International Congress of Comparative Physiology and Biochemistry, (23–28.09.2015, Kraków, Poland). – Kraków, 2015. – P. 339. – *Здобувачем запропонована схема експерименту, здійснена підготовка проб для визначення фракційного складу жирних кислот, участь у написанні тез.*
55. Кушнірик О. В., Худа Л. В., **Худий О. І.** Вплив різних кормових субстратів на амінокислотний склад культури *Simosephalus vetulus* Muller // «Біотехнологія XXI століття»: тези доповідей IX Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченій 170 річниці від дня народження Іллі Мечникова (Київ, 24.04.2015). – К.: НТУУ «КПІ», 2015. – С. 59. – *Здобувачем обговорені та узагальнені результати.*
56. **Худый А.**, Худа Л., Мацепа И. Оценка возможности использования иммуномодулятора ДОН-1R при выращивании осетровых в УЗВ // Тезисы докладов Международного научно-практического семинара по индустриальной аквакультуре «Иновационные технологии рыбководства в рециркуляционных системах» (Горки, Беларусь, 18–19 мая 2015). –

- Минск: РУП «Институт рыбного хозяйства», 2015. – С. 34. – *Здобувачем здійснено підбір доз препарату для використання в УЗВ.*
57. **Khudyi A.**, Bezhenar R., Khuda L. Current status and development perspectives of pond fish culture in Chernivtsi Province, Ukraine // Aquaredpot Workshop on Innovative Outdoor Fish Farming Technologies. Abstracts. (Vodňany, Czech Republic, 19–20 May 2014). – Szarvas, 2014. – Р. 21. – *Здобувачем проведено узагальнення інформації щодо стану аквакультури в регіоні.*
58. **Худий О. І.**, Худа Л. В., Банар Т. І., Кушнір І. А. Характеристика ростових процесів дністровської стерляді в установці замкнутого водопостачання // Проблеми функціонування та підвищення біопродуктивності водних екосистем: матеріали Міжнародної науково-практичної дистанційної конференції, присвяченої 110-річчю до дня народження професора Г.Б. Мельникова (24–25.04.2014, Дніпропетровськ). – Дніпропетровськ: ДНУ, 2014. – С. 169–172. – *Здобувачем розроблена схема експерименту, проведено обговорення результатів, написання тез.*
59. Кушнірик О. В., **Худий О. І.**, Худа Л. В., Малиш Н. І. Використання каротинсинтезуючих дріжджів *Rhodotorula glutinis* та *Rhodotorula rubra* у культивуванні *Moina macroscopa* (Straus, 1820) // Біотехнологія XXI: тези доповідей VIII Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченої 200 річниці з дня народження Т.Г. Шевченка (Київ, 25.04.2014). – К.: НТУУ«КПІ», 2014. – С. 42–43. – *Здобувачем проведено планування експерименту та узагальнення отриманих результатів.*
60. **Худий О.І.** Реєстр знахідок осетрових у басейні Дністра // Сучасні проблеми теоретичної та практичної іхтіології: матеріали VII Міжнародної іхтіологічної науково-практичної конференції

- (Мелітополь-Бердянськ, 10-13 вересня 2014 р.). – Херсон: Видавець Гринь Д.С., 2014. – С. 256–266.
61. **Худий А.**, Кольман Р., Худая Л., Марченко М.М., Тертерян Л.А., Здановски Б., Тертерян Л.Л., Прусинска М. Днестровская стерлядь: опыт выращивания в рециркуляционных системах // Сучасні проблеми теоретичної та практичної іхтіології: матеріали VI Міжнародної іхтіологічної науково-практичної конференції (Тернопіль, 9–12.10.2013). – Тернопіль: Вектор, 2013. – С. 297–300. – *Здобувачем здійснено вилов плідників та узагальнення результатів по їх domestикації.*
62. **Khudiy O.**, Marchenko M., Khuda L., Mruk A., Terteran L. Sex reversion in rainbow trout under industrial conditions growing // 5-th Polish-Ukrainian Weigl Conference on Microbiology (Chernivtsi, May 23–25, 2013). – Chernivtsi, 2013, – P. 100. – *Здобувачем здійснено літературний пошук результатів аналогічних досліджень та їх узагальнення, участь у написанні тез.*
63. Khuda L.V., **Khudiy O.I.** The problem of nitrite intoxication of fish when grown in recirculating systems // AQUARED POT Workshop on Recirculating Aquaculture. Abstracts. (Vilnius, Lithuania, 13-14 May 2013). – Szarvas: Reseach Institute for Fisheries, Aquaculture and Irrigation, 2013. – P.18. – *Здобувачем проведено обговорення отриманих результатів та написання тез.*
64. **Khudiy O.**, Khuda L. The distribution of alien fish species in the waters of Nothern Bukovina and Nothern Bessarabia (Ukraine) // The IV International symposium “Invasion of alien species in Holarctic” (Borok – 4) (September 22-28, 2013). – Borok, 2013. – P. 82. – *Здобувачем проведено польові дослідження, визначення видів, здійснено літературний пошук, написання тез.*

65. Кушнирык О.В., Худый А.И. Пространственное распределение зоопланктона в средней части Днестровского водохранилища в летний период // Управление трансграничной рекой Днестр в рамках бассейнового Договора: междунар. конференция (20-21 сентября 2013 г., Кишинев). – Кишинев, 2013. – С. 206–210. – *Здобувачем проведено частину гідробіологічних досліджень, обговорення результатів, написання матеріалів.*
66. Khudyi O., Khuda L. The population state of vyrezub *Rutilus frisii* (Nordmann, 1840) in the Dniester basin // International conference “Resources of eels and other migratory fish species”. Abstracts. (Vilnius, Lithuania, 16-17 May 2013) – Vilnius, 2013 – P. 71–72. – *Здобувачем проведено збір іхтіологічного матеріалу та узагальнення даних Чернівецької держрибоохорони.*
67. Чередарик М.И., Худый А.И. Влияние паводковых стоков на продукционно-деструкционные процессы в горных гидроэкосистемах // Экологический мониторинг и биоразнообразие: материалы IV международной научно-практической конференции (Ишим, 18-19 апреля 2012 г.). – Ишим: Изд-во ИГПИ им. Ершова, 2012. – С. 229–233. – *Здобувачем здійснено літературний пошук та узагальнення результатів досліджень, написання тез.*
68. Худий О. І., Худа Л. В. Розвиток малої гідроенергетики в карпатському регіоні України: аналіз можливих ризиків та пошук шляхів їх мінімізації для іхтіофауни // Сучасні проблеми теоретичної і практичної іхтіології: матеріали V Міжнародної іхтіологічної науково-практичної конференції (Чернівці, 13–16.09.2012). – Чернівці: Книги–XXI, 2012. – С. 244–247. – *Здобувачем здійснено літературний пошук та узагальнення наявної інформації щодо впливу малих ГЕС на гідроекосистеми, написання тез.*

- 69.Романчич О.О., Худий О.І. Структура локальних угруповань риб у мілководних рдестових заростях Дністровського водосховища // Оцінка екологічного стану території та перспективи розвитку туризму і рекреації Чернівецької області. Горбуновські читання (м. Чернівці, 19.04.2012). – Чернівці: ЧФ НТУ «ХПІ», 2012. – С. 70–71. – *Здобувачем проведені іхтіологічні збори, визначення видової приналежності риб, статистичну обробку, написання тез.*
- 70.**Khudiy O.**, Korchak L., Bezhenar R., Lukan O. Danube streber and zingel distribution in the rivers of Northern Bukovina // First International Conference of Fish Diversity of Carpathians (Stara Lesna, Slovakia, 22–23.09.2011) – Bratislava: Institute of Zoology SAS, 2011. – P. 22–23. – *Здобувачем проведені іхтіологічні дослідження, здійснено літературний пошук та узагальнення результатів, написання тез.*
- 71.**Худий О.І.** Прояви статевого диморфізму в популяції вирезуба *Rutilus frisii* (Nordmann)з Дністровського водосховища // Збереження генофонду та відновлення популяцій цінних видів риб. – К.: ДІА, 2011. – С. 103–108.
- 72.**Худий О. І.**, Беженар Р. В., Лукань О. В. Раритетна іхтіофауна річки Черемош // IV Міжнародна іхтіологічна науково-практична конференція «Сучасні проблеми теоретичної та практичної іхтіології». (Одеса, 7–11.09.2011р.) – Одеса: Фенікс, 2011. – С. 234–237. – *Здобувачем проведені іхтіологічні дослідження, здійснено літературний пошук та узагальнення результатів, написання тез.*
- 73.**Худий О.І.**, Гарматюк О.М., Рябко Г.Д., Кудер В.О. Попередні дослідження показників зараженості риб Дністровського водосховища паразитами // Охорона довкілля та проблеми збалансованого природокористування: матеріали міжнародної конференції (м. Кам'янець-Подільський, 10–11.05.2011). – Кам'янець-Подільський:

- Мошинський, 2011. – С. 109–111. – *Здобувачем здійснено планування експерименту, узагальнення результатів дослідження, написання тез.*
74. Чередарик М.І., Худий О.І. Оцінка стану гірських екосистем східних схилів Карпат // Всеукраїнська науково-практична конференція «Регіональні та транскордонні проблеми екологічної безпеки. Горбуновські читання». Тези доповідей. (м. Чернівці, 5–7 травня 2011 р.) – Чернівці: Прут, 2011. – С. 178–179. – *Здобувачем здійснено літературний пошук та узагальнення результатів досліджень, написання тез.*
75. Худий О. І., Худа Л. В. Низхідна міграція білого товстолобика через греблю Дністровського водосховища // Сучасні проблеми теоретичної та практичної іхтіології. Матеріали III Міжнародної іхтіологічної науково-практичної конференції (Дніпропетровськ, 30 вересня-2 жовтня, 2010р.) – Дніпропетровськ, 2010. – С.189–192. – *Здобувачем проведені іхтіологічні дослідження, здійснено літературний пошук та узагальнення результатів, написання тез.*
76. Крисько І.С., Худий О.І., Петрак С.В. Характеристика інтенсивності спортивно-любительського рибальства на Дністровському водосховищі // Стан та перспективи використання водного басейну Поділля: промислові, екологічні, туристичні аспекти: матеріали міжнародної науково-практичної конференції (Кам'янець-Подільський, 13-14 жовтня, 2010 р.) – Кам'янець-Подільський, 2010. – С. 89–91. – *Здобувачем проведено аналіз результатів рейдових перевірок держрибоохорони, написання тез.*
77. Худый А. И., Корчак Л. Н., Беженар Р. В., Смирнов Д. А. Размерно-весовая характеристика чопы малого *Zingel streber* (Siebold) из реки Прут // Экология, эволюция и систематика животных: Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным

- участием (Рязань, 17-19 ноября 2009 г.). – Рязань: НП «Голос губернии», 2009. – С. 292–293. – *Здобувачем розроблена схема експерименту, проведено статистичний аналіз результатів, написання тез.*
78. **Худий О. І.**, Худа Л. В. Гідрохімічна характеристика передгірської ділянки течії ріки Прут // Збірка матеріалів II Міжнародної конференції «Сучасні проблеми біології, екології та хімії» (Запоріжжя, 01-03 жовтня 2009р.). – Запоріжжя, 2009. – С.108–109. – *Здобувачем проведено частину гідрохімічних досліджень, обговорення результатів, написання тез.*
79. **Худий О. І.**, Худа Л. В., Цапок О. Л. Гістологічна характеристика яєчників статевозрілих самок туводної форми вирезуба *Rutilus frisii frisii* (Nordmann) Дністровського водосховища // Тези II Міжнародної іхтіологічної науково-практичної конференції (Севастополь, 16–19.09.2009). – Севастополь, 2009. – С. 165–167. – *Здобувачем проведено опис гістологічних препаратів, участь у написанні тез.*
80. **Худый А.И.** К вопросу о распространении и численности туводной популяции вырезуба в системе Днестр-Днестровское водохранилище // Управление трансграничным бассейном реки Днестр и Водная Рамочная Директива Европейского Союза. Материалы Международной конференции. Кишинев, 2-3 октября 2008 г. – Кишинев: Есо-Tiras, 2008. – С. 160 – 162.
81. **Худий О.І.** Актуальні проблеми іхтіоценозу Дністровського водосховища // Тези I Міжнародної науково-практичної конференції «Сучасні проблеми теоретичної та практичної іхтіології» (18-21 вересня 2008 р., Канів) – Канів, 2008. – С. 152–155.
82. Чередарик М.И., **Худый А.И.** Альгофлора горных рек восточной части Карпатского региона Украины // Современные проблемы альгологии:

Материалы международной научной конференции и VIII Школы по морской биологии (9-13 июня 2008 г., Ростов-на-Дону). – Ростов-на-Дону: Изд-во ЮНЦ РАН, 2008. – С. 384–386. – *Здобувачем проведено частину гідробіологічних досліджень, обговорення результатів, написання статті.*

- 83.Скільський І., Хлус Л., Худий О. Раритетний компонент фауни транскордонних територій в межах Буковини: сучасний стан та проблеми збереження // Україна–Румунія: результати і перспективи транскордонного співробітництва в контексті євроінтеграційних процесів: Матеріали міжнародної наукової конференції, Чернівці, 17–18 квітня 2007 р. – Чернівці: Рута, 2007. – С.176–178. – *Здобувачем проведені іхтіологічні дослідження, здійснено літературний пошук та узагальнення результатів, написання іхтіологічної частини представлених матеріалів.*

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	43
ВСТУП	45
РОЗДІЛ. 1. ЗАСТОСУВАННЯ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ПІДХОДІВ В АКВАКУЛЬТУРІ	55
1.1. Блакитний сектор біотехнології як основа раціональної експлуатації водних біоресурсів та сталого розвитку	55
1.2. Пріоритети напрямки досліджень у сфері аквакультури.....	59
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	66
2.1. Дослідження видового складу, оцінка рибопродуктивності та розрахунок обсягів зариблення водойм регіону дослідження	66
2.2. Методика штучного відтворення аборигенних видів риби в умовах рециркуляційної системи	67
2.3. Методи культивування кормового зоопланктону	69
2.4. Методи біоінкапсуляції есенціальних сполук в живі корми.....	71
2.5. Методика застосування γ -кротонолактон-вмісного препарату ДОН- 1R для прискорення отримання біомаси досліджуваних організмів.....	77
2.6. Методи оцінки застосування базальтового туфу в технології очистки води та в якості мінеральної добавки	78
2.7. Дослідження виживаності та ростових процесів ранньої молоді риби за використання модифікованих живих кормів.....	79

2.8. Виготовлення експериментальних гранульованих кормів	81
2.9. Моделювання нітритної інтоксикації організму риб	83
2.9 Біохімічний аналіз кормових організмів та тканин молоді і плідників риб.....	84
2.10. Проведення гістологічних досліджень	90
2.11. Статистичний аналіз даних	90
РОЗДІЛ. 3. ХАРАКТЕРИСТИКА ІХТІОФАУНИ КАРПАТСЬКОГО РЕГІОНУ В КОНТЕКСТІ ЗАПРОВАДЖЕННЯ БІОТЕХНОЛОГІЇ ВІДТВОРЕННЯ АБОРИГЕННИХ ВИДІВ	91
3.1. Таксономічна структура іхтіофауни Українських Карпат та Передкарпаття	91
3.2. Созологічна характеристика іхтіофауни Українських Карпат та Передкарпаття	93
1.3. Оцінка стану рибних запасів у водотоках Українських Карпат та Передкарпаття та їх рибогосподарська експлуатація	100
РОЗДІЛ. 4. РИБНИЦЬКО-ТЕХНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА РЕЦИРКУЛЯЦІЙНОЇ СИСТЕМИ В ЧЕРНІВЕЦЬКОМУ НАЦІОНАЛЬНОМУ УНІВЕРСИТЕТІ	118
РОЗДІЛ. 5. ХАРАКТЕРИСТИКА БІОТЕХНОЛОГІЇ ШТУЧНОГО ВІДТВОРЕННЯ СТЕРЛЯДІ ВЕРХНЬОДНІСТРОВСЬКОЇ ПОПУЛЯЦІЇ	131
5.1. Поширення та умови існування стерляді в системі Дністер- Дністровське водосховище	131
5.2. Біотехнологія штучного відтворення дністровської стерляді в індустріальних умовах.....	137
5.3. Застосування препарату ДОН-1R в технології вирощування осетрових риб в умовах індустріальної аквакультури	149

5.4. Застосування базальтових туфів у кормовиробництві.....	162
РОЗДІЛ. 6. БІОТЕХНОЛОГІЯ ЖИВИХ КОРМІВ В УМОВАХ	
ІНТЕНСИВНОЇ АКВАКУЛЬТУРИ	171
6.1. Шляхи модифікації технології культивування живих кормів	171
6.1.1. Біоінкапсуляція поліненасичених жирних кислот у науплії <i>Artemia</i>	175
6.1.2. Вплив збагаченої поліненасиченими кислотами артемії на личинок осетрових риб	198
6.2. Попередження нутрієнтної депривації при створенні функціональних живих кормів в аквакультурі	219
6.3. Культивування прісноводного зоопланктону як стартового корму для риб та шляхи його нутрієнтної модифікації.....	236
6.3.1. Використання як альтернативного середовища для культивування кормового зоопланктону скидної води з УЗВ.....	236
6.3.2. Вплив γ -кротонолактон-вмісного препарату ДОН-1R на продуктивність прісноводного зоопланктону.....	243
6.3.3. Біоінкапсуляція каротиноїдів у живі корми.....	246
6.3.4. Оптимізація каротинсинтезуючої активності дріжджів <i>Rhodotorula</i> <i>glutinis</i>	270
6.3.5. Оцінка поживної цінності зоопланктону при використанні <i>Rhodotorula glutinis</i> в асоціації з лактобактеріями як кормового субстрату	278
6.4. Застосування пробіотичних препаратів в біотехнології водних біоресурсів	281
6.5. Використання базальтового туфу у технології культивування живих кормів для риб	285

РОЗДІЛ. 7. ФУНКЦІОНУВАННЯ СИСТЕМИ ВІДНОВЛЕННЯ МЕТГЕМОГЛОБІНУ В ЕРИТРОЦИТАХ РИБ ЗА УМОВ НІТРИТНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ	295
ВИСНОВКИ.....	311
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	316
ДОДАТКИ.....	366

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АлАТ – аланінамінотрансфераза;

АсАТ – аспартатамінотрансфераза;

АФК – активні форми кисню;

ВР – вразливий;

ГГТП – гамма-глутамілтранспептидаза;

ДГК – докозагексаєнова кислота;

ЕПК – ейкозапентаєнова кислота;

ЗН – зникаючий;

ЗНЛ – зниклий;

ЛФ – лужна фосфатаза;

МДА – малоновий диальдегід;

МНЖК – мононенасичені жирні кислоти;

МО – міжнародна одиниця;

НЖК – насичені жирні кислоти;

НО – недостатньо відомий;

об. – оберти;

ПНЖК – поліненасичені жирні кислоти;

ПОЛ – пероксидне окиснення ліпідів;

Р – рідкісний;

ТБК – тіобарбітурова кислота;

ТХО – трихлороцтова кислота;

УЗВ – установка замкнутого водопостачання;

ФГ – фермерське господарство;

ЧКУ – Червона книга України;

ЧНУ – Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича;

шт. – штук;

ADaM – artificial daphnia medium;

BC – Bern Convention;

CITES – Convention on International Trade in Endangered Species;

Hb – гемоглобін;

IRS – Instytut Rybactwa Śródlądowego im. Stanisława Sakowicza;

IUCN – International Union for Conservation of Nature;

MtHb – метгемоглобін

ВСТУП

Актуальність теми. Інтенсивне комплексне використання водойм Карпатського регіону у різних галузях господарської діяльності (рибне господарство, рекреація, гідроенергетика тощо) зумовило істотне зменшення чисельності або й повне зникнення окремих видів риби, що вимагає запровадження заходів по зарибленню водойм молоддю аборигенних видів. Найефективнішим методом отримання зарибку задля реституції у природні водойми є застосування технологій інтенсивної аквакультури, які базуються на сучасних досягненнях біотехнології [15; 175].

Одна з актуальних прикладних проблем – впровадження високоефективних технологій відтворення аборигенних видів риби в умовах інтенсивної аквакультури, що передбачає розробку видоспецифічних технологічних режимів переднерестової підготовки плідників, стимуляції та отримання статевих продуктів, інкубації заплідненої ікри, переведення личинок на екзогенне живлення та їх підрощення. Прикладом успішного використання біотехнологічних методів з природоохоронною метою можуть слугувати роботи з відновлення популяцій низки раритетних видів риби у країнах Європейського Союзу. Зокрема, в країнах Балтії вдалося відновити популяції кумжі *Salmo trutta* Linnaeus, 1758 та атлантичного лосося *S. salar* Linnaeus, 1758 [232; 258; 367], а також головатиці *Hucho hucho* (Linnaeus, 1758) в Словаччині та Чеській Республіці [212], успішно реалізується програма по відновленню балтійської популяції гостроногого осетра *Acipenser oxyrinchus* Mitchill, 1815 в Польщі [247] та європейського осетра *A. sturio* Linnaeus, 1758 у країнах Західної Європи [156].

Підвищення чисельності популяцій раритетних видів риби внаслідок запровадження заходів з їх штучного відтворення, в перспективі дозволить

знизити їх природоохоронний статус та запровадити невиснажливу експлуатацію рибних запасів як одного з видів відтворюваних ресурсів. Окрім того, залучення фермерських рибницьких господарств до природоохоронних програм з відтворення аборигенних видів дозволить їм диверсифікувати можливість отримання прибутку у разі зниження попиту на товарну рибу. Це неодмінно сприятиме розвитку рибогосподарської діяльності та позитивно позначиться на економічній ситуації на місцях та сприятиме наповненню бюджету та створенню робочих місць в об'єднаних територіальних громадах, що відповідає стратегії їх розвитку [22]. Окрім того, за умов застосування вискоєфективних рибницьких технологій частина видів, які на сьогодні є рідкісними, можуть бути комерціалізованими.

Для видів, які вперше вводяться в аквакультуру, гостро стоїть питання підбору раціону у зв'язку з відсутністю розроблених для них спеціалізованих кормів. Частково дана проблема вирішується шляхом введення в кормові субстанції різних біологічно активних речовин. Зокрема, відомим є позитивний вплив каротиноїдів на молодь риб [170], а також на процеси статевого дозрівання та функціональний стан плідників в умовах аквакультури [41]. Застосування насичених імуномодельючими препаратами кормів з підвищеним вмістом есенціальних сполук також дозволяє запобігти негативним наслідкам розвитку стресорних реакцій [305], ризик яких особливо зростає за умов ущільненої посадки при інтенсивному вирощуванні риби. Основними джерелами есенціальних нутрієнтів в аквакультурі все ще залишаються рибне борошно та риб'ячий жир, що істотно підвищує собівартість кормів [341]. Виходом з ситуації, що склалася, може бути часткове заміщення основних компонентів на альтернативну сировину, зокрема продукти мікробного синтезу, а також продукти переробки біомаси водоростей [90; 214].

У технології штучного відтворення риб і підрощування до життєздатного стану отриманого потомства успішно використовуються рибоводні установки замкнутого водопостачання, перевага яких полягає у можливості повного контролю та корекції умов утримання у відповідності до фізіологічних потреб вирощуваних об'єктів [12; 290; 344].

При проведенні робіт із зарибленню природних водних об'єктів найбільші втрати спостерігаються протягом початкового періоду, що пов'язано з істотною відмінністю в якості життєвого середовища в аквакультурних та натурних умовах. При зміні середовищ виживають організми з високим адаптивним потенціалом. Відповідно, важливою є розробка технології отримання рибопосадкового матеріалу аборигенних видів із підвищеною життєздатністю задля зростання ефективності процесу їх реінтродукції у природні водойми. Для підрощення ранньої молоді риб за інтенсивною технологією широко використовуються живі корми, що пов'язано з їх високою засвоюваністю організмом личинок [136; 173]. Це особливо важливо на початкових етапах розвитку личинок риб, коли їх травна система характеризується низькою ензиматичною активністю. У зв'язку з цим, травлення у риб під час переходу на екзогенне живлення значною мірою забезпечується гідролітичними ферментами спожитого живого корму [80]. Живі корми є не лише джерелом нутрієнтів, але й можуть слугувати засобом доставки в організм личинок різноманітних терапевтичних агентів, пробіотиків, есенціальних сполук, мікроелементів [137; 177; 300], що забезпечує підвищення рівня їх виживаності та прискорення темпів росту [227].

Таким чином, розробка та впровадження цілісної системи заходів з біотехнології штучного відтворення аборигенних видів риб дозволить відновити їх чисельність та в повній мірі реалізувати господарський, рекреаційний та екологічний потенціал водойм Карпатського регіону.

Зв'язок роботи з науковими програмами. Дисертаційна робота виконана на кафедрі біохімії та біотехнології Інституту біології, хімії та біоресурсів Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича (ЧНУ) в рамках наступних науково-дослідних робіт: «Оцінка сучасного стану та розробка аквакультурних методів підтримки біологічного різноманіття реофільних коропових риб річок Білорусі та України» (2017 р., № ДР 0117U003700), «Біохімічні аспекти респонсивної інтеграції метаболізму есенціальних нутрієнтів» (2015-16 рр., № ДР 0115U003231), «Застосування біотехнологічних підходів у штучному відтворенні аборигенних риб з метою реінтродукції» (2017-19 рр., № ДР 0117U001155), «Біохімічні принципи застосування нутрієнтних факторів і вторинних метаболітів про- та еукаріот в попередженні і корекції патологічних станів» (2011-15 рр., № ДР 0111U002503), «Розроблення проекту організації території національного природного парку "Хотинський", охорони, відтворення та рекреаційного використання його природних комплексів і об'єктів» (2012 р., № ДР 0112U004894), «Створення першого репродуктивного центру для відтворення аборигенних видів риб на Дністрі» (2016 р., за фінансування благодійного фонду НІКО-Крона), Грант Президента України для підтримки наукових досліджень молодих учених «Біологічні засади збереження та відтворення вирезуба *Rutilus frisii* (Nordmann)» (2007 р., № ДР 0107U003872), «Environmental Protection of International River Basins» (2013 р., SC № 2011/279-666, EuropeAid/131360/C/SERMult, Ares (2013)2633879), «Науково-біологічне обґрунтування здійснення штучного розведення, вирощування риби та невиснажливого використання її запасів у рибогосподарських водних об'єктах Кельменецького району Чернівецької області» (2009 р., № ЧНУ 55.02, керівник роботи), «Комплексна оцінка сучасного стану іхтіоценозу Дністровського водосховища у світлі

оптимізації його експлуатації: розрахунок запасів, а також лімітів вилову основних промислових видів риби» (2009 р., № ЧНУ 55.01, керівник роботи).

Мета та задачі дослідження. *Мета роботи* – розробка та застосування сучасних біотехнологічних підходів задля підвищення ефективності технологій штучного відтворення аборигенних видів риби Карпатського регіону.

Для досягнення поставленої мети були сформульовані наступні **завдання:**

1. З'ясувати актуальний стан рибних ресурсів басейнів Пруту, Сірету та Дністра в межах Карпатського регіону та визначити перелік видів риби, щодо яких є доцільним запровадження технологій штучного відтворення для подальшого зариблення.

2. Розрахувати біологічну ємність гідроекосистем стосовно окремих видів, які пропонуються для зариблення.

3. Розробити нові та оптимізувати існуючі технологічні підходи до штучного відтворення аборигенних видів риби шляхом підбору умов переднерестового утримання в УЗВ вилучених з природи плідників, розробки технологічного режиму стимуляції та отримання статевих продуктів, інкубації заплідненої ікри.

4. Розробити невитратні методи нарощування біомаси живих кормів в умовах інтенсивної аквакультури.

5. Розробити технологічний режим біоінкапсуляції есенціальних нутрієнтів та біологічно активних речовин у живі корми задля прискорення темпів росту та підвищення життєздатності личинок риби.

6. Апробувати можливість використання речовин із стимулюючими властивостями для пришвидшення темпів росту молоді аборигенних видів риби в умовах інтенсивного вирощування.

7. На основі аналізу значень біохімічних маркерів функціонального стану організму з'ясувати адаптивні можливості молоді риб, вирощеної на модифікованих живих кормах, до дії стресорних чинників навколишнього середовища.

Об'єктом дослідження є біотехнологія штучного відтворення господарсько-цінних і раритетних видів риб.

Предметом дослідження є технологічні параметри штучного відтворення аборигенних видів риб Карпатського регіону з використанням установок замкнутого водопостачання, технологія отримання функціональних живих кормів, а також властивості отриманих кормових організмів.

Методи дослідження: біохімічні, мікробіологічні, рибницькі, іхтіологічні, гідробіологічні, гідрохімічні, статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше з вилучених з природних умов особин стерляді прісноводної *Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758 з верхньодністровської популяції, вирезуба причорноморського *Rutilus frisii* (Nordmann, 1840), марени звичайної *Barbus barbus* (Linnaeus, 1758) сформовано в неволі стійкі репродуктивні стада для отримання зарибку, призначеного для реінтродукції у природні водойми.

Вперше розроблена технологія біоінкапсуляції прісноводного зоопланктону каротиноїдами з використанням дріжджів *Rhodotorula glutinis* та *Rhodotorula rubra*, що дозволило підвищити вміст астаксантину та інших ксантофілів у живих кормах для риб.

Як стимулятор росту при вирощуванні риби в установках замкнутого водопостачання використано γ -котонолактонвмісний препарат ДОН-1R. Розроблена технологія його застосування для нарощення біомаси кормових організмів.

Показана можливість застосування цеолітів з родовища «Полицьке 2» як джерела мікроелементів при виготовленні гранульованих кормів, а також їх використання у технології водопідготовки в умовах інтенсивної аквакультури.

Результати роботи обґрунтовують доцільність застосування біотехнологічних прийомів штучного відтворення у заходах зі збереження видового різноманіття риб Карпатського регіону.

Практичне значення одержаних результатів. За результатами виконаних досліджень проведено комплексну оцінку стану водойм Карпатського регіону, що дозволило обґрунтовано розробити рекомендації з раціональної експлуатації рибних ресурсів та окреслити основні напрямки не лише збереження, але й відтворення видового різноманіття риб. Автором розроблено науково-біологічне обґрунтування використання водних живих ресурсів Дністровського водосховища (2009), в якому розраховані ліміти вилову основних промислових видів риб, затверджені в подальшому відповідними наказами Міністерства охорони навколишнього природного середовища України та Мінагрополітики. У 2016 р. розроблено науково-біологічне обґрунтування обсягів зариблення Дністровського водосховища стерляддю прісноводною (*A. ruthenus*), а в 2018–2019 рр. – молоддю сома європейського (*Silurus glanis* Linnaeus, 1758), судака звичайного (*Sander lucioperca* (Linnaeus, 1758)) та щуки звичайної (*Esox lucius* Linnaeus, 1758), на основі яких проведено вселення отриманого в умовах аквакультури рибопосадкового матеріалу у досліджуване водосховище, що відображено у відповідних документах.

Застосування методів біоінкапсуляції каротиноїдів та есенціальних поліненасичених жирних кислот у живі корми забезпечує зменшення показників смертності ранньої молоді осетрових риб при переході на екзогенне живлення, а також прискорення темпів росту личинок.

Розроблені технології можуть бути використані не лише при отриманні зарибку для реінтродукції, але й для товарного рибництва.

Розроблена технологія застосування цеолітів з родовища «Полицьке 2» забезпечує підвищення ефективності процесу водопідготовки в умовах інтенсивної аквакультури.

Розроблені способи застосування зворотної води з рибоводних УЗВ як культиваційного середовища для кормового зоо- та фітопланктону захищено відповідними патентами України на корисні моделі.

Результати дисертаційної роботи використані в навчальному процесі під час розробки та викладання дисциплін «Інтенсивні технології в аквакультурі» та «Біотехнологія культивування кормових організмів» для студентів освітніх рівнів «Бакалавр» та «Магістр» спеціальності «Біотехнології та біоінженерія».

Особистий внесок здобувача. Планування та підготовка дисертаційної роботи здійснені автором особисто. Викладені в дисертації результати експериментальних досліджень одержано за безпосередньої участі автора або під його керівництвом. Співвиконавці виконаних досліджень наводяться як співавтори відповідних наукових публікацій. Пошукувачем були висунуті основні гіпотези, на яких базується ідея дисертаційної роботи.

Одержання накопичувальних культур каротинсинтезуючих дріжджів *Rhodotorula glutinis* і *R. rubra*, зелених мікроводоростей *Desmodesmus armatus* проводили спільно з к.б.н. Л.М. Васиною, к.б.н. Л.М. Чебан. Біоінкапсуляцію науплій артемії та підрощення ранньої молоді осетрових і сома європейського проводили спільно з співробітниками Інституту прісноводного рибництва імені Станіслава Саковіча в Ольштині (IRS) професором Р. Кольманом, докторами А. Капустою та М. Прусінською, А. Дудою, Г. Вішнєвським, директором ФГ «Ішхан» Л. Тертеріяном, а також

співробітниками кафедри біохімії та біотехнології ЧНУ. Визначення біохімічних показників у кормових організмів та риб різних вікових категорій проводили спільно з к.б.н. Л.В. Худою і к.б.н. О.В. Кушнірик. Аналізи по визначенню вмісту жирних та амінокислот виконували в Інституті біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України. Вплив пробіотиків досліджували спільно з член-кореспондентом НАНУ М.Я. Співаком, стимулюючий ефект препарату ДОН-1R вивчали спільно з д.х.н. В.П. Новіковим. Вплив туфу на якість води аналізували разом з д.х.н. І.М. Кобасою. Видовий склад фітопланктону визначали спільно з к.б.н. М.І. Чередарик (ЧНУ), зоопланктону – доктором Я. Туновскім (IRS). Особисто автором описані результати досліджень, проведено їх аналіз та обговорення, сформульовано висновки. Автор висловлює щирю вдячність зазначеним науковцям та всім, хто сприяв виконанню дисертаційної роботи. Особливу подяку здобувач висловлює науковому консультанту доктору біологічних наук, заслуженому діячу науки і техніки України, професору М.М. Марченку за підтримку та поради під час підготовки дисертаційної роботи.

Апробація результатів дисертації. Основні положення роботи доповідались та обговорювались на міжнародних і всеукраїнських конференціях та конгресах, серед яких 2nd International Aquaculture Conference “Recirculating Aquaculture Systems (RAS): Life Science and Technologies” (2017.05.04, Daugavpils), IV International Scientific and Technical Conference «State and prospects of food science and industry» (Ternopil, 11–12.10.2017), VIII та IX Всеукраїнські науково-практичні конференції «Біотехнологія XXI століття» (Київ, 2014–2015 pp.), The 9th International Congress of Comparative Physiology and Biochemistry, (23–28.08.2015, Kraków, Poland), XI Український біохімічний конгрес (6–10.10.2014, Київ), V–VII З’їзди гідроекологічного товариства України

(2005, 2010, 2015 pp.), I–XI Міжнародні іхтіологічні науково-практичні конференції «Сучасні проблеми теоретичної і практичної іхтіології» (2008–2018 pp.), Международная научно-практическая конференция «Аквакультура осетровых: современные тенденции и перспективы» (18.05.2016, Херсон), Международный научно-практический семинар по индустриальной аквакультуре «Инновационные технологии рыбоводства в рециркуляционных системах» (18–19.05.2015, Горки, Беларусь), Aquaredpot Workshop on Innovative Outdoor Fish Farming Technologies (19–20.05.2014, Vodňany, Czech Republic), AQUARED POT Workshop on Recirculating Aquaculture (13-14.05.2013, Vilnius, Lithuania), Международная конференция «Управление трансграничной рекой Днестр в рамках бассейнового Договора» (20–21.09.2013, Кишинев, Молдова), First International Conference of Fish Diversity of Carpathians (Stara Lesna, Slovakia, 22–23.09.2011), 5-th Polish-Ukrainian Weigl Conference on Microbiology (23–25.05.2013, Chernivtsi).

Публікації. За результатами досліджень опубліковано 83 наукові праці, у тому числі розділи у 3 монографіях, 31 стаття у наукових фахових виданнях (з них 16 статей у виданнях іноземних держав, 4 – у виданнях України, які включені до міжнародних наукометричних баз), 7 статей в інших виданнях, 3 патенти на корисну модель, 38 тез доповідей в збірниках матеріалів конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, опису результатів досліджень, їх аналізу та обговорення (5 розділів), висновків, списку використаних джерел (367 найменувань), додатків. Основний зміст роботи викладено на 365 сторінках друкованого тексту, містить 114 рисунків та 37 таблиць.

РОЗДІЛ. 1. ЗАСТОСУВАННЯ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ПІДХОДІВ В АКВАКУЛЬТУРІ

1.1. Блакитний сектор біотехнології як основа раціональної експлуатації водних біоресурсів та сталого розвитку

Переломним в історії експлуатації водних біоресурсів став 2014 рік, коли вперше частка отриманої в умовах аквакультури риби для задоволення харчових потреб людства в загальних обсягах перевищила частку виловленої в Світовому океані [104]. Прогнозується, що надалі зростання чисельності населення планети посилюватиме попит на продукти харчування, у тому числі на рибну продукцію, тому ресурсна база Світового Океану в майбутньому не матиме змоги в повній мірі задовільнити потреби людства у харчовій рибі. З іншого боку, посилення пресингу промислового рибальства негативно впливатиме на природні популяції переважної більшості промислово цінних видів риб, серед яких значна частина вже сьогодні знаходиться під загрозою зникнення.

Стагнація комерційного рибальства призвела до зростання ролі аквакультури, яка протягом останніх двох десятиріч років стала сектором, що найінтенсивніше розвивається в сфері виробництва продуктів харчування. Даний феномен отримав назву «блакитна революція» [104; 329]. Це стало можливим в основному за рахунок індустріалізації галузі, суть якої полягає в тому, що за рахунок можливості повного контролю параметрів середовища створюються оптимальні умови вирощування, завдяки яким вдається досягнути високої щільності посадки та одержання товарної рибної продукції протягом цілого року; для годівлі об'єктів культивування використовуються повноцінні збалансовані корми, що забезпечує їх високий темп росту. Окрім того, для індустріальної аквакультури властивий високий ступінь механізації та автоматизації всіх

виробничих процесів, що забезпечує максимальне підвищення продуктивності праці.

Проте, виклики, які стоять перед сучасною аквакультурою – прискорення темпів вирощування, підвищення стійкості до захворювань гідробіонтів в умовах ущільненої посадки, створення високопродуктивних функціональних кормів, – не можуть бути подолані без застосування біотехнологічних підходів [14; 15].

З іншого боку, біотехнологічні підходи все частіше використовуються для збереження раритетних видів [198; 302] і, відповідно, біорізноманіття водних екосистем (рис. 1.1).



Рис. 1.1. Основні завдання аквакультури, які вирішуються біотехнологічними методами

Широке застосування методів біотехнології в сучасній аквакультури, зростаючі можливості використання різних груп водних організмів для отримання нових цільових продуктів дозволили оформитись цілісному напрямку біотехнологічних досліджень – «блакитна біотехнологія» [147; 228].

Однією з основних сфер застосування блакитної біотехнології є розробка технологій культивування та переробки біомаси гідробіонтів-продуцентів біоактивних сполук, насамперед каротиноїдів, поліненасичених жирних кислот, незамінних амінокислот, а також інших речовин, які знайшли своє застосування як нутрицевтики та кормові добавки [68].

Все частіше з водних організмів вдається отримати нові речовини, які служать основою фармацевтичних препаратів [99]: Цитарабін та Відарабін, виділені з губки *Tethya crypta*, використовується при лікуванні лейкемії та вірусних захворювань відповідно; Трабектедин, виділений з тунікат *Ecteinascidia turbinata*, володіє протипухлинною дією [241]. У косметології успішно використовуються лосьйони з екстрактом з коралового поліпа *Pseudopterogorgia elisabethae* псевдоптерозин, креми з екстрактом водорості *Durvillea antarctica* застосовують для догляду та лікування шкіри, французька косметологічна компанія Sederma реалізує лінійку сонцезахисних продуктів, що включають ферменти, виділені з термофільної бактерії *Thermus thermophilus*. Загалом, ферменти, що продукуються *T. thermophilus*, мають широке біотехнологічне застосування, зокрема рекомбінантна термостабільна ДНК-полімераза з температурним оптимумом 70–80 °C [312].

Важливим напрямком блакитної біотехнології є пошук джерел відновлюваної сировини для отримання біопалива. Перспективним у даному аспекті є використання біомаси водоростей, що дозволяє отримати

множинний ефект – окрім цільового продукту, відбувається фіксація вуглекислого газу та здійснюється десапробізація води.

Однією з основних передумов подальшого розвитку блакитного сектору біотехнології та якісно нового підходу в експлуатації водних біоресурсів є концепція циклічної економіки. Дана концепція передбачає відхід від домінуючого в сучасному виробництві принципу «взяв, зробив, використав» на користь виготовлення товарів, які не вимагають заміни, а можуть бути легко відремонтовані та/або вторинно перероблені [174].

Зростання споживчого інтересу до продукції, отриманої за допомогою блакитної біотехнології, та, відповідно, все більші обсяги її використання дозволяє говорити вже про формування блакитного сектору економіки [174]. Концепція «блакитної економіки» охоплює не лише економічну та торговельну діяльність, але й об'єднує збереження, стале використання та управління біорізноманіттям водних організмів (рис. 1.2).



Рис. 1.2. Роль збереження біорізноманіття гідробіонтів у сталому розвитку

Отже, запорукою сталого розвитку є збереження біорізноманіття гідроекосистем та раціональна експлуатація водних біоресурсів. Як вже зазначалось вище, уникнути посилення антропогенного тиску на природні популяції гідробіонтів можна за рахунок розвитку аквакультури.

У наш час блакитна біотехнологія розглядається як черговий крок у технологічній еволюції сучасної аквакультури [259]. Біотехнологія в сфері аквакультури розробляє базові підходи щодо застосування молекулярних, генетичних і клітинних технологій для підвищення рентабельності виробництва продукції водних організмів шляхом підвищення їх споживчих якостей та стабільності виробничого процесу.

1.2. Пріоритети напрямки досліджень у сфері аквакультури

Вважається, що для забезпечення стабільного росту обсягів виробництва продукції аквакультури протягом найближчого десятиліття дослідження в галузі повинні проводитись за сімома основними напрямками: дослідження глобального та регіональних ринків та споживчого попиту, пошук джерел альтернативної кормової сировини та розробка функціональних кормових добавок, генетичні дослідження, здоров'я об'єктів аквакультури, вивчення соціально-економічних викликів, розробка та впровадження нових технологічних систем [333]. Принаймні п'ять з наведених напрямків так чи інакше пов'язані з розвитком біотехнологій та використанням біотехнологічних підходів.

Дослідження ринків та споживчого попиту. Саме споживачі визначатимуть напрямки розвитку аквакультури своїми вподобаннями та купівельною спроможністю. У зв'язку з цим виробникам слід уникати рішень, які істотно підвищуватимуть собівартість продукції. З іншого боку спостерігається підвищення споживчого інтересу до дорожчої регіональної

продукції, висока собівартість якої пов'язана у першу чергу з недосконалістю технологій вирощування нетрадиційних об'єктів аквакультури. Відповідно, актуальним питанням є введення в аквакультуру нових видів для задоволення споживчого попиту на різноманітність продукції аквакультури. Це, в свою чергу, вимагає розробки технологій утримання риби в неволі, вирощування та штучного відтворення нових об'єктів аквакультури.

Пошук альтернативної сировини для виготовлення кормів. Одним з основних лімітуючих чинників, що стримують розвиток аквакультури, є дефіцит протеїнвмісної сировини для виробництва кормів [333]. На сьогодні головним джерелом білку в кормах залишається рибне борошно, яке отримують з виловленої з натурних умов риби [341; 349]. Виникає парадокс – нарощення обсягів виробництва аквакультури вимагає збільшення об'ємів вилову риби з натурних умов для виготовлення кормів [342]. Виходом з ситуації, що склалася, може бути часткове заміщення рибного борошна на альтернативну сировину, зокрема продукти мікробного синтезу. Окрім рослинної сировини все більшого застосування в кормовиробництві знаходять дріжджові гідролізати та екстракти, а також продукти переробки біомаси водоростей [39; 40; 90; 154; 214]. Дані біотехнологічні препарати успішно використовуються в процесі вирощування товарної риби, проте також заслуговують уваги при розробці функціональних стартових кормів для личинок риб.

Із заміною рибного борошна на альтернативну сировину постає нова проблема якості кінцевої продукції аквакультури. Зокрема у риб, вирощених на кормах з альтернативної сировини, можуть бути зміщені жирнокислотні та амінокислотні профілі, що істотно знижує харчову цінність такої продукції для людини. Тому заміщення основної сировини в кормах повинно супроводжуватись введенням до їх складу

функціональних добавок, таких як препарати поліненасичених жирних кислот, біодоступних амінокислот, нуклеотидів, екстрактів клітинної стінки, ферментних препаратів, пре- та пробіотиків. Проведення лабораторних і комерційних випробувань доцільності використання подібних препаратів дозволить уникнути проблем, пов'язаних з обмеженістю ресурсів, зниженням якості продукції та зниженням продажів у майбутньому.

Генетичні дослідження. Селекція в аквакультурі істотно відстає від селекції в наземних аграрних системах і потребує швидкого розвитку. Протягом наступного десятиліття вибір ознак, за якими буде проводитись селекція гідробіонтів, буде включати здатність ефективно перетравлювати кормові ресурси з альтернативних білкових і ліпідних джерел, досягати високих темпів росту (у тому числі при збільшенні температури, зумовленому глобальними змінами клімату), розвивати стійкість до захворювань [15; 307].

Досягнення у збереженні генетичного різноманіття протягом наступного десятиліття повинні доповнюватися збереженням специфічного вільного від патогенів (SPF) і специфічного патоген-резистентного статусу поголів'їв гідробіонтів, що вирощуються в неволі [333].

Слід зауважити, що міграція генетичного матеріалу з аквакультурних умов в природні і генетичне забруднення можуть походити з безлічі несподіваних джерел і мати неочікувані наслідки. Проблема виробництва селективно розведених гідробіонтів, які не становлять загрози для існуючих диких популяцій в умовах наявності інвазивного або забруднюючого генетичного матеріалу, стає все більш гострою. Для ефективного вирішення проблем, пов'язаних із впливом на природні популяції витоку генів, слід проводити ґрунтовні дослідження, які дали б

змогу змодельовати наслідки несанкціонованого потрапляння об'єктів генетичної селекції та модифікації в природні системи.

Підвищення стійкості та виживаності об'єктів аквакультури.

Рівень виживаності в аквакультурі порівняно менший, ніж це досягнуто у наземних системах виробництва продукції тваринництва. Вдосконалення технологічного процесу, особливо фаз личинок та ранньої молоді, призводить до зниження смертності та в кінцевому рахунку має потенціал до збільшення обсягів виробництва у глобальному масштабі. У ларвакультурі найбільші втрати спостерігаються на етапі переходу личинок на екзогенне живлення. Застосування як стартових збалансованих гранульованих кормів часто не має належного ефекту через те, що личинки на початкових етапах мають низьку ензиматичну активність травного тракту, що не дозволяє їм ефективно засвоювати поживні речовини таких кормів. Виходом з такої ситуації є застосування стартових живих кормів, у яких кормовий організм виступає не лише як джерело нутрієнтів, але й як джерело гідролітичних ферментів [275]. Проте окремі види кормових організмів можуть бути дефіцитними за певними нутрієнтами [295]. Застосування технологій біоінкапсуляції у живі корми цільових продуктів дозволяє істотно підвищити їх біодоступність для личинок риби. За таких умов можна отримати живий корм, збагачений поліненасиченими жирними кислотами, вітамінами, каротиноїдами, пробіотичними мікроорганізмами тощо [138; 177]. Вигодовування личинок риби такими збагаченими стартовими живими кормами істотно підвищує їх виживаність на етапі переходу на зовнішнє живлення, а також підвищує стресостійкість та адаптивні можливості отриманого рибопосадкового матеріалу.

Дослідження практичних шляхів підвищення ефективності біозахисту об'єктів аквакультури, економічно обґрунтованих програм

спостереження за захворюваннями та поліпшення розуміння епідеміології нових патогенів забезпечують підвищення ефективності профілактики та зменшення поширення захворювань [15; 265]. Незважаючи на велику кількість препаратів, пробіотиків і пребіотиків, які були розроблені для посилення імунної відповіді і підвищення загальної стійкості, багато з них не були оцінені в комерційних умовах або не була доведена економічна доцільність їх застосування. Велика кількість хімічних сполук на сьогодні обмежена для використання в технологіях вирощування об'єктів аквакультури [143; 327]. Відповідно, проблема пошуку ефективних та простих у використанні вакцин та терапевтичних засобів, а також методів їх доставки в організм вирощуваних гідробіонтів залишається актуальною. Значна кількість подібного роду питань вже вирішується і може бути вирішена в майбутньому із використанням біотехнологічних підходів.

Соціально-економічні дослідження необхідні для більш повного розуміння умов, за яких розвиток дрібної аквакультури забезпечить зменшення бідності і підвищить продовольчу безпеку, а також умов, за яких вона не буде розвиватись. Відсутність комплексних досліджень щодо ринку праці в сфері аквакультури може стати перешкодою для її сталого розвитку. Аквакультурні компанії дедалі частіше покладаються на недорогу робочу силу працівників з третіх країн. Оскільки рівень життя продовжує зростати у всьому світі, доступність видів праці, необхідних для підприємств аквакультури, може стати серйозним обмеженням.

Розуміння динаміки ринку праці для аквакультури може допомогти визначити шляхи планування механізації та автоматизації виробництва, які будуть потрібні із збільшенням дефіциту робочої сили. Також необхідно розуміти, що біотехнологізація виробництва продукції аквакультури збільшить попит на висококваліфіковані високооплачувані кадри. Не менш важливим буде поглиблене розуміння національних та міжнародних

регуляторних рамок. Необхідні дослідження щодо альтернативних механізмів та механізмів інноваційної політики, що стосуються потреби у збільшенні виробництва аквакультури при одночасному вирішенні екологічних проблем.

Технології та їх апаратне забезпечення. Для подальшого розвитку продуктивності шляхом покращення виробничих систем і технологій вкрай важливо продовжувати інженерні дослідження. Незважаючи на те, що замкнуті системи часто є кращими для вирощування личинкових і ювенільних стадій, відкриті системи в більшій мірі підходять для отримання товарної продукції та утримання ремонтно-маточного поголів'я. Подальші дослідження повинні бути спрямовані на визначення оптимальних комбінацій (і термінів) виробничих систем (замкнутих та відкритих) для забезпечення кращої продуктивності гідробіонтів на всіх етапах життя. Важливо зосередитись на інтенсивних технологіях культивування у зв'язку з все більшим дефіцитом простору для відкритих систем.

Вдосконалення рециркуляційних систем пов'язане, насамперед, з використанням технологічних досягнень в сфері очистки води. Основним завданням біотехнології у вирішенні цього питання є виведення нових штамів організмів як компонентів біоплівки для підвищення ефективності роботи біофільтрів, що, у свою чергу, дозволить збільшити щільність посадки вирощуваних гідробіонтів.

Зниження енергоємності рибницьких УЗВ також є однією з умов сталого розвитку аквакультури і може бути забезпечене застосуванням альтернативних джерел енергії. У міру збільшення вимог щодо нульових відходів необхідно буде проводити дослідження щодо повторного використання та утилізації всіх потоків відходів аквакультури, таких як стічні та промивні води, тверді відходи у вигляді біологічних відкладень.

Вдосконалення технологій використання стічних вод для отримання фітомаси вищих рослин або водоростей не лише забезпечить очистку води, але й дозволить отримати додатковий прибуток [51; 160; 335; 350].

Окремі види отриманої таким чином фітомаси можуть бути використані для виробництва біогазу або інших видів біопалива, що дозволить підвищити енергоефективність підприємств аквакультури [220; 328]. Тверді відходи, що утворюються в процесі освітлення води, також можуть бути використані для отримання як біогазу [278], так і додаткової біомаси живих кормів [159].

Стабільний розвиток в умовах глобальних змін клімату. Для точного моделювання ймовірних наслідків необхідний довгостроковий регіональний моніторинг якості води та інші параметри, які, як очікується, будуть впливати на глобальні зміни в кліматі. Аквакультурні підприємства відкритого типу та види, які в них вирощуються, піддаватимуться екстремальним впливам внаслідок зміни клімату. Хоча катастрофічні події важко передбачити, тенденції, що вже спостерігаються, дозволяють очікувати формування сезонних екстремальних значень окремих параметрів води. Це вимагає перегляду виробничих циклів, заміну традиційних об'єктів вирощування на більш витривалі види. Необхідною є побудова конкретних регіональних моделей розвитку виробництва продукції аквакультури, а також зміни стану запасів водних біоресурсів. Це дозволить завчасно підготувати шляхи вирішення майбутніх екологічних проблем із залученням потенціалу сучасної аквакультури, у тому числі з використанням новітніх біотехнологічних досягнень.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дисертаційну роботу виконували протягом 2005 – 2019 років у Чернівецькому національному університеті імені Юрія Федьковича.

2.1. Дослідження видового складу, оцінка рибопродуктивності та розрахунок обсягів зариблення водойм регіону дослідження

Дослідження видового складу іхтіофауни та оцінку стану рибних запасів проводили на основі аналізу уловів сітних знарядь в ході виконання науково-дослідного контрольного лову (дозвіл № ДКРГ 036), браконьєрських уловів під час рейдових перевірок спільно з органами рибоохорони та уловів рибалок-аматорів.

Проведення науково-дослідного контрольного лову здійснювали за типовою методикою [78].

Відлов плідників стерляді прісноводної верхньодністровської популяції, марени звичайної та вирезуба причорноморського здійснювали згідно Дозволів Міністерства екології та природокористування України № 2012/19 та 2018/3.

Вивчення стану гідроекосистем та розвитку природної кормової бази риб проводили традиційними методами [5].

Відбір проб зоопланктону проводили у водоймах досліджуваного регіону із використанням батометра Рутнера і планктонних сіток Апштейна та Джеді з газом №65 [5]. Проби фіксували формаліном в кінцевій концентрації 4%. Камеральну обробку здійснювали на базі відділу гідробіології Інституту прісноводного рибництва імені Станіслава Саковича. Перед опрацюванням відібрані в польових умовах проби зоопланктону осаджували протягом 10-14 днів. Відбирали надлишок

рідини, надалі із сконцентрованої проби послідовно вилучали 3-4 порції певного об'єму і переносили у камеру Богорова. Результати обрахунку за видами з однієї проби усереднювали. Фотофіксацію зразків здійснювали у чашках Петрі за допомогою цифрової камери мікроскопа Nikon SMZ-2T. Проміри розмірів досліджуваних видів зоопланктону проводили з використанням програми аналізу зображень. Таксономічну приналежність встановлювали відповідно визначників [58, 63, 74, 97, 128].

Потенційну рибопродуктивність розраховували з рівнем розвитку природної кормової бази за формулою:

$$V = \frac{P/B \times B \times R}{K}, \quad (2.1)$$

де P/B – продукційнобіомасовий коефіцієнт;

B – біомаса зообентосу (г/м^2) або зоопланктону (г/м^3);

R – коефіцієнт засвоюваності зообентосу або зоопланктону організмом риб;

K – кормовий коефіцієнт.

Розрахунок обсягів зариблення проводили з врахуванням різниці потенційної та фактичної рибопродуктивності, проекрованої частки виду в іхтіокомплексі та відсотка доживання зарибку до статевозрілого віку.

2.2. Методика штучного відтворення аборигенних видів риб в умовах рециркуляційної системи

Проектування експериментальної рибоводної установки замкнутого водопостачання (УЗВ) та розрахунок необхідних технічних характеристик її основних вузлів здійснювали відповідно до наявних виробничих площ з урахуванням біологічних особливостей риб, яких планували утримувати [344].

Для контролю безпечності утримання риб в УЗВ здійснювали дослідження основних гідрохімічних показників та мікробіологічне

дослідження води.

Зокрема, рівень рН та значення окисно-відновного потенціалу реєстрували за допомогою іономіру И-160МИ з застосуванням відповідних селективних електродів.

Визначення загальної мінералізації та електропровідності середовищ культивування здійснювали із використанням кондуктометра Water Quality Tester COM-100.

Вміст розчиненого кисню контролювали потенціометричним методом за допомогою киснеміру PDO-607.

Вимірювання концентрації іонів NH_4^+ та NO_3^- проводили потенціометричним методом за допомогою іонометра И-160МИ з іонселективними електродами ЭЛИС-121 NH_4^+ та ЭЛИС-121 NO_3^- .

Визначення вмісту нітритів здійснювали фотометричним методом із застосуванням реактиву Грісса, вмісту фосфатів – фотометричним методом з молібдатом амонію $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ [5].

Розробку біотехнології вирощування верхньодністровської стерляді в умовах УЗВ здійснювали відповідно до базових рекомендацій з аквакультури осетрових [19; 246].

Розрахунок основних ростових параметрів вирощуваних риб проводили за відповідними формулами [264]. Всіх риб з масою тіла від 180 г позначили магнітними мітками Trovan® ID-100 з десятизначним кодом, що забезпечило можливість моніторингу кожної конкретної особини.

Стать вперше дозріваючих плідників стерляді та стадію зрілості гонад визначали методом біопсії, яку проводили за 4-6 місяців до запланованого нересту. При наявності у відібраних зразках тканини яєчників ооцитів з накопиченим меланіном визначали індекс поляризації, за яким оцінювали готовність самок до застосування щодо них біотехнології штучного розмноження [123; 246].

Для стимуляції дозрівання самок верхньодністровської стерляді застосовували короповий та осетровий гіпофіз. Суспензію гіпофізарної тканини у фізіологічному розчині вводили у два етапи: першу ін'єкцію здійснювали за 36 годин до запланованого нересту у розрахунку 0,5 мг гіпофізу на 1 кг маси тіла самок по 1 мл в кожний бік тіла. Паралельно проводили стимуляцію дозрівання самців, яким гіпофізарну суспензію вводили одноразово із розрахунку 4 мг гіпофізу на 1 кг маси тіла. Через 12 годин після першої здійснювали другу вирішальну ін'єкцію, яка містила тканину гіпофізу із розрахунку 5 мг/кг.

Для забезпечення нормального дозрівання статевих продуктів після гіпофізарної ін'єкції температуру води в рибоводних ємностях поступово збільшували на 2-3 °С. Через 24 години після введення вирішальної ін'єкції за наявності ознак овуляції проводили відбір ікри методом Подушки [315]. Інкубацію заплідненої ікри здійснювали в апаратах Вейса та МкДональда [246].

Переведення личинок на зовнішнє живлення проводили з використанням живих кормів.

2.3. Методи культивування кормового зоопланктону

Цисти *Artemia* sp. (Sep-Art Artemia cysts, «Ocean Nutrition», Belgium) інкубували в апаратах Вейса ємністю 8 л протягом 24 годин при температурі 28°C, рН 7,5-8,5, інтенсивному освітленні (2,5 клк) та аерації. Для забезпечення відповідної солоності інкубаційного середовища додавали NaCl у дозі 30 г/л. Щільність закладки цист складала 4 г/л.

В роботі використовували цисти, оброблені за специфічною технологією Sep-Art, що забезпечує покриття оболонок нетоксичним магнітним матеріалом. По завершенню інкубації на 15 хв вимикали світло і компресор. В результаті цього оболонки цист спливали на поверхню, а

науплії концентрувалися в нижній частині апарату. Надалі за допомогою магнітного сепаратора, що захоплює залишки стулок та мертві, непроінкубовані цисти, здійснювали остаточне відділення живих науплій.

Культивування прісноводного зоопланктону *Simocephalus vetulus* (Muller, 1776), *Moina macrocopa* (Straus, 1820), *Moina micrura* Kurz, 1874, *Daphnia magna* Straus, 1820 здійснювали в кліматичній кімнаті за дотримання температури $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 16-ти годинного фотоперіоду, інтенсивності освітлення близько 2,5 клк [86]. Початкова кількість особин складала 50 /л. Підрахунок досліджуваних організмів здійснювали у камері Богорова методом аліквот із використанням мікроскопу MicroMed XS-3300.

Кормовим субстратом для зоопланктону слугувала водна суспензія дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* [158, 233] (*S. cerevisiae* Meyen ex E.C.Hansen (1883), штам УКМ Y-554), стандартизована за кількістю клітин $23,5\text{--}24,5 \times 10^6$ КУО на 1 л середовища. Внесення дріжджів здійснювали кожні 48 годин. Культури досліджуваних ракоподібних, які вирощувалися на синтетичному середовищі ADaM [242], використовували як контроль.

Таблиця 2.1.

**Склад синтетичного середовища для прісноводного зоопланктону
(ADaM) [242]**

Artificial daphnia medium (на 10л)		
синтетична морська сіль	3,33г	Аерація 24 год.
0,8M CaCl ₂	23мл	
0,3M NaHCO ₃	22мл	
0,013M H ₂ SeO ₃	1 мл	
Дистильована вода	Довести до 10л	

2.4. Методи біоінкапсуляції есенціальних сполук в живі корми

Біотехнологію модифікації нутрієнтного складу живих кормів методом біоінкапсуляції в них каротиноїдів та поліненасичених жирних кислот апробовували на монокультурах *Moina macroscopa*, *Simoccephalus vetulus*, *Daphnia magna* та *Artemia* sp.

2.4.1. Методи біоінкапсуляції науплій артемії

Для біоінкапсуляції поліненасичених жирних кислот у живі корми використовували препарати з різним співвідношенням у їх вмісті докозагексаєнової та ейкозапентаєнової жирних кислот: ПНЖК-вмісний препарат 1 з часткою ДГК в жирнокислотному профілі 54% і ЕПК –3,7% та ПНЖК-вмісний препарат 2 з часткою ДГК в жирнокислотному профілі 17,6% і ЕПК – 7,3% (табл. 2.2).

Таблиця 2.2

Склад комплексних ПНЖК-вмісних препаратів

	Препарат 1	Препарат2
Волога, %	58	32,5
Зольність, %	1	0,5
Жири, %	33	66
Білки, %	3	0,5
Клітковина	0,5	0,5
Загальний фосфор, %	0,2	0,2
Натрій, %	0,2	0,1
Кальцій, %	0,1	0,1
ω3 ПНЖК, мг/г	150	200
ДГК/ЕПК	15	2,5
Вітаміни		
А, МО/кг	110000	1500000
D ₃ , МО/кг	10000	150000
Е, МО/кг	5,400	3,600
С, МО/кг	8,000	800
Мікроелементи		
Цинк, мг/кг	125	
Селен, мг/кг	0,35	
Антиоксиданти		
Пропілгаллат, мг/кг	50	30
Бутилгідроксианізол, мг/кг	50	30
Етоксиквін, мг/кг	200	120

Вихідну емульсію вказаних препаратів одержували гомогенізацією необхідної дози препарату в 200 мл води протягом 3 хв. Одержану емульсію додавали до середовища, що містило науплії артемії.

Біоінкапсуляцію артемії вказаними препаратами проводили за різними схемами.

При застосуванні препарату ПНЖК-1 було сформовано наступні дослідні групи:

Група 1. Науплії артемії, яким усю добову дозу (3г/апарат) вносили на початку культивування одноразово (0 година).

Група 2. Науплії артемії, яким добову дозу вносили рівними порціями дворазово на початку і через 6 годин культивування.

Група 3. Науплії артемії, яким добову дозу вносили рівними порціями на початку і через 12 годин культивування.

Група 4. Науплії артемії, яким добову дозу препарату вносили дворазово рівними частинами через 6 і через 12 годин культивування.

Науплії артемії, яким не вносили у середовище препарат, проте які були культивовані за тих самих умов, що й дослідні групи, слугували контрольною групою.

Аналогічно при здійсненні біоінкапсуляції артемії препаратом 2 було сформовано наступні дослідні групи:

Група 1. Науплії артемії, яким одноразово вносили препарат у дозі 0,6 г/л на початку культивування.

Група 2. Науплії артемії, яким одноразово вносили препарат у дозі 0,9 г/л на початку культивування.

Група 3. Науплії артемії, яким одноразово вносили препарат у дозі 1,2 г/л на початку культивування.

Група 4. Науплії артемії, яким дворазово рівними частинами вносили препарат у дозі 0,6 г/л на початку і через 12 годин культивування.

Артемії, які не отримували препарат 2 слугували контрольною групою.

Для попередження нутрієнтної депривації протеїну в наупліях артемії, що перебувають у автоматичних фідерах для риб, була оцінена можливість застосування протеїнових кормових добавок. Насичення артемії здійснювали препаратом NuPro (Alltech Inc., UK), виготовленим на основі гідролізату дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* [167, 187] та препаратом AlgaMac Protein Plus (Aqua fauna Bio-Marine, Inc., USA), що являє собою протеїн-збагачений альгоконцентрат.

Досліджувані препарати у трьох різних дозах - 0,1, 0,2 та 0,4 г/л одноразово вносили в середовище інкубації науплій. Артемії контрольної групи утримувались без додавання препаратів. Біоінкапсуляція тривала протягом 24 годин з постійною аерацією та підтримкою температури 28°C.

Через кожні 6 годин від початку вищезазначених експериментів (0, 6, 12, 18 та 24 год) з використанням камери Багорова та бінокулярного мікроскопа Nikon SMZ-2T (Japan), оснащеного цифровою камерою, підраховували кількість живих та мертвих артемій у дослідних та контрольній групах та обраховували індекси кумулятивної смертності.

Для цього по 1 мл середовища з наупліями артемії поміщали у лічильну камеру для підрахунку планктону. Обраховували кількість мертвих особин, після цього всі екземпляри фіксували у розчині Люголя. Смертність науплій вираховували у % як співвідношення мертвих екземплярів до загальної кількості всіх науплій у 1 мл середовища з артеміями. Індекс кумулятивної смертності розраховували за формулою:

$$ІКС_i = \frac{\sum_0^{24} n_i}{\sum_0^{24} N_i} \times 100 \quad (2.2)$$

n – чисельність мертвих особин в пробі станом на i годину;

N – загальна кількість особин в пробі станом на i годину

i – період культивування (0, 6, 12, 24 год)

Для здійснення промірів розмірів науплій випадковим чином відбирали по 100 екземплярів.

2.4.2. Методи біоінкапсуляції прісноводного зоопланктону

Використання каротинсинтезуючих дріжджів роду *Rhodotorula* для збагачення живого корму каротиноїдами

Як джерело каротиноїдів для насичення кормового зоопланктону були обрані здатні до каротиногенезу дріжджі *Rhodotorula glutinis* (Fresenius) F.C.Harrison (1982) (УКМ Y-1242) та *R. rubra*, надані Інститутом мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України. Контролем слугував зоопланктон, який вирощували з використанням *Saccharomyces cerevisiae* в якості кормового субстрату.

Каротинсинтезуючі дріжджі *R. glutinis* та *R. rubra* культивували глибинним способом у м'ясо-пептонному бульйоні [189] протягом 7 діб [254]. Інокулят одержували шляхом вирощування посівного матеріалу культури впродовж 2-х діб при температурі 28°C. Посівний матеріал культивували при постійному перемішуванні на лабораторному шейкері (180-200 об/хв) в температурному діапазоні 26-28°C впродовж 5-ти діб.

Динаміку накопичення біомаси оцінювали, вимірюючи оптичну густину суспензії на спектрофотометрі при довжині хвилі $\lambda = 625$ нм. Вимірювання проводили на перший, третій та п'ятий день культивування при основній ферментації.

Для відділення біомаси дріжджів від культуральної рідини отриману мікробну суспензію центрифугували 20 хв (3000 об/хв., ОПН-8). Надалі отриману дріжджову біомасу стандартизовували за кількістю КУО/л з наступним проведенням руйнування клітинних стінок за допомогою УЗДН-2Т протягом 20 хв.

Використання каротинсинтезуючих дріжджів як кормового субстрату

для культур прісноводного зоопланктону здійснювали протягом 26 діб з інтервалом 48 годин шляхом внесення у культивацийне середовище суспензії з відповідною кількістю дріжджів.

Для підбору оптимальної кількості та тривалості біоінкапсуляції каротинсинтезуючих дріжджів досліджувані організми кожної з культур зоопланктону були поділені на 6 дослідних груп, з яких :

I– III групи –кормовий субстрат *Rhodotorula glutinis* в кількості 1 г/л (3×10^{11} КУО/л); 0,5 г/л ($1,5 \times 10^{11}$ КУО/л); 0,25 г/л ($0,75 \times 10^{11}$ КУО/л) відповідно;

IV-VI групи – кормовий субстрат – *Rhodotorula rubra* в аналогічних кількостях.

Після підбору оптимальної концентрації каротинвмісних дріжджів (0,5 г/л) здійснювали дослідження насичення каротиноїдами кормових організмів *M. macrocopa*, *S. vetulus*, *Daphnia magna*. Контролем слугували *M. macrocopa*, *S. vetulus* та *Daphnia magna*, що отримували як кормовий субстрат *Saccharomyces cerevisiae* (0,5 г/л).

Для отримання мутантних культур посівний матеріал *Rhodotorula glutinis* вирощували у рідкому середовищі Сабуро впродовж 2 діб за температури 28°C. Концентрацію мікроорганізмів доводили до сталої величини та висівали у чашки Петрі. Після 48-годинного культивування на твердому середовищі проводили опромінення бактерицидними лампами ДБ-60 з довжиною хвилі 254 нм у стерильних умовах протягом 120 хв на відстані 40 см від поверхні культури. Надалі колонії витримували 48 годин за попередньої температури у темряві, щоб уникнути фоторепарації генетичного матеріалу. Селекцію колоній здійснювали за ступенем інтенсивності їх забарвлення.

Спільне культивування з молочнокислими мікроорганізмами проводили з використанням модифікованого середовища на основі

молочної сироватки з наступним компонентним складом (г/л): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 6,0; KH_2PO_4 – 5,5; Na_2HPO_4 – 3,0; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5; дріжджовий екстракт – 5,0, pH 5,5.

Інокулят дріжджів вирощували 48 годин на рідкому середовищі Сабуро, інокулят молочнокислих бактерій – 24 години на середовищі із молочною сироваткою. Потім кількість мікроорганізмів доводили до сталої концентрації, спільно висаджували на поживне середовище (інокуляту дріжджів – 10 %, інокуляту молочнокислих бактерій – 5 %) та проводили основну ферментацію у колбах Ерленмейера – 5 діб при температурі 28 °C на електричному шейкері ЛАБ–ПУ–01 (160 об./хв).

Для осідання клітин з рідкого середовища колби залишали на ніч у холодильнику. Потім більшість надосадової рідини зливали, а до залишку біомаси додавали дистильовану воду і центрифугували протягом 20 хв при 3000 об/хв для промивання клітин мікроорганізмів.

При спільному культивуванні дріжджів та молочнокислих бактерій визначення кількості дріжджових клітин проводили методом Коха у зв'язку із непрозорістю культуральної рідини.

Для визначення вмісту каротиноїдів, білків, ліпідів біомасу відділяли від культуральної рідини центрифугуванням протягом 15 хв при 3000 об/хв на центрифугу ОПН-8. Осад відбирали та здійснювали хімічний гідроліз клітин 1Н розчином HCl.

Одержану суспензію дріжджів стандартизували за кількістю клітин 24×10^6 на 1 л живильного середовища та використовували як кормовий субстрат для зоопланктону *Daphnia magna*. Підрахунок кількості клітин здійснювали з використанням камери Горяєва під мікроскопом MicroMed XS-2670. Внесення суспензії дріжджів, як і біомаси асоційованих мікроорганізмів, проводили кожні 56 год.

2.5. Методика застосування γ -кротонолактон-вмісного препарату ДОН-1R для прискорення отримання біомаси досліджуваних організмів

Гамма-кротонолактонвмісний препарат ДОН-1R використовується для профілактики захворювань риб в ставовому рибористві [100]. До його складу входять γ -кротонолактон та суміш органічних кислот (мурашиної, малеїнової, бурштинової, фумарової), похідні коричної кислоти та 2-бутенолоїдів. Вказаний препарат люб'язно наданий для дослідження кафедрою технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка».

Швидкість наростання біомаси культур зоопланктону за дії препарату ДОН-1R досліджували в дозах, рекомендованих виробником як профілактична, лікувальна та подвійна лікувальна. Маточний розчин ДОН-1R, для отримання 1 л якого розводили 0,0167 мкл препарату, вносили у відповідних кількостях у середовище для культивування зоопланктону з періодичністю в 48 годин.

Дослідження можливості застосування препарату при вигодовуванні товарної риби проводилися на однорічних особинах сибірського осетра в діапазоні маси 390-800 г. Використовували експериментальний корм-основу типу БМ, який попередньо обробляли розчином ДОН-1R у концентрації 120 мкл на 1 кг корму (профілактична доза). Як контрольну групу використовували риб, яких вигодовували необробленим комбікормом. Тривалість експерименту складала 40 діб.

Оцінку функціонального стану печінки риби за дії препарату здійснювали біохімічними та гістологічними методами. Забір крові проводили прижиттєво з серця на 20-у та 40-у доби експерименту. Гістологічні дослідження проводили на 40-у добу експерименту.

2.6. Методи оцінки застосування базальтового туфу в технології очистки води та в якості мінеральної добавки

При дослідженні можливості застосування базальтових туфів як фільтруючих елементів використовували зразки мінералів, отриманих із родовища “Полицьке 2”.

До мінералогічного складу базальтових туфів родовища "Полицьке-2", які використовувалися в дослідженні, входять: цеоліти 35–40 %, монтморилоніти 30–40 %, польові шпати 10–15 %, кремнеземи 4–5 %, гематити 3–5 %. Середньостатистичні результати аналізу хімічного складу туфу, виражені через масові відсотки оксидів, наведені в таблиці 2.3.

Таблиця 2.3

Хімічний склад базальтового туфу родовища „Полицьке-2”, % [121]

SiO ₂	Al ₂ O ₃	MgO	Fe ₂ O ₃	TiO ₂	K ₂ O	Na ₂ O	CaO	MnO	P ₂ O ₅	SO ₃
67,44	12,82	5,02	10,14	1,75	1,06	0,94	0,46	0,09	0,12	0,11

Узагальнення результатів аналізу показало, що базальтовий туф належить до алюмосилікатів з масовим співвідношенням $Si/Al = 4,7 \div 5,9$, які містять Ферум в кількості 68–74 г/кг. Крім елементів, сполуки яких у перерахунку на оксиди наведені у таблиці 2.3, досліджувані туфи містять також мікроелементи (Манган, Цинк, Купрум, Кобальт, Нікол) в кількостях 0,71- 0,08 г/кг. Токсичні елементи (Хром, Плюмбум, Меркурій, Арсен) у їх складі відсутні [121].

Для порівняння модифікуючого впливу температури на зміну властивостей базальтового туфу проводили дослідження з використанням прожарених мінералів за температури 150 та 1000°C, а також використовували природні термічно незмінені зразки базальтового туфу.

Матеріалом для дослідження токсичного впливу базальтового туфу на живі організми слугували лабораторна культура гіллястовусих

ракоподібних – *Moina macroscopa* та риби – *Danio rerio*. Культуру *Moina macroscopa* вирощували на стандартизованому за хімічним складом синтетичному середовищі ADaM. Утримання риб *Danio rerio* проводили в ємностях по 3 дм³ з використанням відстояної води з розрахунком 0,9 л на одну особину. При формуванні дослідних груп при розведенні зоопланктону та утриманні риб у ємності вносили зразки базальтового туфу (термічно незмінні, прожарені при 150 та 1000 °C) у розрахунку 30, 40 та 50г на 1л.

Для дослідження можливості використання цеолітів в якості фільтруючих елементів в установках замкнутого водопостачання використовували воду із навчально-наукової УЗВ Чернівецького національного університету. Воду відбирали із механічного фільтра, куди вона поступала із рибоводних ємностей. Воду вносили в ємності та заповнювали їх кількістю туфу, яка відповідає 50%, 100% та 150 % об'єму заповнення механічного фільтра.

2.7. Дослідження виживаності та ростових процесів ранньої молоді риб за використання модифікованих живих кормів

Дослідження застосування живих кормів, збагачених ПНЖК, здійснювали у відділі іхтіології Інституту прісноводного рибництва імені Станіслава Саковіча на личинках осетрових риб у віці 9 діб (в період переходу на зовнішнє живлення): атлантичного осетра *Acipenser oxyrinchus* Mitchill, 1815 (особини початковою середньою масою $0,019 \pm 0,001$ г) та стерляді *Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758 (особини початковою середньою масою $0,0140 \pm 0,0006$ г).

Вирощування риби здійснювали в УЗВ, рибоводні ємності якої були представлені квадратними басейнами розміром 1×1 м, рівень води в яких

становив 50–75 см.

Основні параметри водного середовища, постійний контроль за якими здійснювали при вирощуванні риби, перебували в значеннях, оптимальних для росту і розвитку осетрових риб [19; 246]. Зокрема, при вирощуванні личинок атлантичного осетра температура води коливалася в межах від 17,5°C до 18,5°C [248], при вирощуванні личинок стерляді – від +20,1°C до +21,3°C [249]. Вміст розчиненого кисню при вирощуванні личинок обох видів не знижувався менше за 5 мг/л (середній рівень 7,5 мг/л) протягом усього терміну експерименту.

По 500 екземплярів личинок осетрових риб кожного виду було розподілено у 4 басейни. Як контроль використовували личинок, що від початку переходу на екзогенне живлення як корм одержували незбагачені (контрольні) науплії *Artemia*, яких вносили у фідбокси відразу після закінчення інкубації. Дослідну групу складали личинки, яких вигодовували наупліями *Artemia*, збагаченими ПНЖК.

Внесення корму здійснювалось щогодини цілодобово у добовій нормі, що складала 100% від біомаси риби. Годівлю личинок атлантичного осетра живим кормом здійснювали 19 діб, стерляді – 14 діб.

Щодобово визначали показник смертності личинок у відсотках мертвих особин до загальної кількості всіх особин. Масу личинок осетрів вимірювали кожні 5 діб, стерляді прісноводної – кожні 3 доби.

Дослідження застосування біоінкапсульованих каротиноїдами живих кормів проводили в Інституті біології, хімії та біоресурсів ЧНУ імені Юрія Федьковича на цьоголітках гібриду російського та сибірського осетрів *Acipenser gueldenstaedtii* × *Acipenser baerii*.

Вирощування личинок риб здійснювали в УЗВ, оснащених системами механічної та біологічної фільтрації. Для проведення експериментальних досліджень личинки осетрових були розподілені на контрольну та

дослідну групи (по 30 екз. у кожній). Контрольна група осетрів щодоби отримувала гранульований корм та 300 мг живого корму *M. macroscopa*, вирощеного на дріжджах *S. cerevisiae*. Дослідна група – гранульований корм та 300 мг *M. macroscopa*, збагаченого каротиноїдами з каротинсинтезуючих дріжджів *R. glutinis* (схема насичення наведена вище). Дозу сухого корму розраховували за загальноприйнятою методикою з урахуванням температури води і загальної та середньої індивідуальної маси особин риб на контрольному етапі експерименту [246]. Кожні 3-4 доби проводили визначення маси контрольної та дослідної груп риб.

Дослідження застосування живих кормів, біоінкапсульованих мікроводоростями, здійснювали при підрощуванні личинки сома європейського (*Silurus glanis*). Одноденні личинки були поділені на дві групи в чотирьох повторностях. Контрольна група як живий корм отримувала нативні науплії артемії, дослідна – артемію, біоінкапсульовану мікроводоростями *Desmodesmus armatus*. Для здійснення процедури біоінкапсуляції біомасу мікроводоростей вносили одноразово у розрахунку $2,7 \times 10^6$ кл/л.

Внесення корму личинкам здійснювалось п'ять разів на добу. Норма годування на добу становила 100% від біомаси риби. Тривалість годівлі живим кормом сягала 14 діб.

Показники смертності, масу та довжину тіла личинок сома визначали кожної доби.

2.8. Виготовлення експериментальних гранульованих кормів

За основу експериментальної базової кормосуміші було обрано рецептуру комбікорму для вирощування осетрових риб БМ-1 [39] зі змінами (табл. 2.4). Гранулювання проводили методом вологого

пресування із використанням гвинтового пресу.

У виготовленого кому визначали здатність до набухання, для цього наважку гранульованого комбікорму масою 25 г поміщали в мірний циліндр об'ємом 500 см³ і відмічали на стінці мірного циліндра рівень, що відповідав зайнятому гранулами об'єму. Другу позначку на циліндрі робили на рівні, що відповідає двократному об'єму корму. Після цього в циліндр наливали воду температурою 20 °С так, щоб верхній її рівень був на висоті 130 мм над рівнем гранул. Відраховували час з моменту наповнення циліндра водою до моменту досягнення набряклими гранулами другої позначки [30].

Таблиця 2.4.

Склад гранульованого корму для осетрових, % [115]

Інгредієнти	БМ-1	Експериментальний корм
Рибне борошно	32	46
М'ясо-кісткове борошно	7	7
Кров'яне борошно	10	-
Сухі відвійки	5	-
Дріжджі кормові	10	10
Шрот соєвий	9	-
Шрот соняшниковий	8	15
Пшеничне борошно	8	10
Риб'ячий жир	9	9
Хлорид натрію	0,5	0,5
Премікс ПФ-2В	1,5	-
Трикальцій фосфат		2,5

З метою вивчення впливу різних добавок в розроблений корм на етапі виготовлення вводили базальтовий туф в розрахунку 4г на 1 кг загальної маси усіх сухих інгредієнтів, а також препарат ДОН-1R у відповідних концентраціях.

2.9. Моделювання нітритної інтоксикації організму риб

Для моделювання нітритного впливу були використані ізольовані еритроцити *Carassius gibelio* (Bloch), *Cyprinus carpio* L., *Hypophthalmichthys molitrix* (Valenciennes), *Acipenser ruthenus* L. Забір крові здійснювали із серця з використанням гепарину як антикоагулянту. Еритроцити відділяли від плазми центрифугуванням при 500g і тричі промивали в розчині Рінгера. Відомо, що прісноводні риби володіють різною чутливістю до нітритів, так, напівлетальна доза нітрит-іонів у воді для різних видів коливається від 0,6 до 2,8 ммоль / л [221; 299]. Враховуючи вище зазначене, а також те, що для риб характерна значна (від 3 до 7 разів) акумуляція нітрит-іонів в плазмі крові [252], концентрації NaNO_2 в середовищі інкубації еритроцитів були відповідно збільшені. Виділені еритроцити розподіляли на 6 груп: контрольну і 5 дослідних, які інкубували в розчині Рінгера з наступними концентраціями NaNO_2 : 7,25 ммоль / л (I група), 14,5 (II), 72,5 (III), 145,0 (IV) 217,5 ммоль / л (V група). Інкубацію проводили протягом 30 хв. при температурі 20 °C.

Визначення вмісту лігандних форм гемоглобіну та метгемоглобінредуктазної активності.

Вміст гемоглобіну визначали гемоглобінціанідним методом, принцип якого полягає в тому, що гемоглобін при взаємодії з заліzosиньородистим калієм окислюється у метгемоглобін. Останній утворює з ацетонціангідрином ціанметгемоглобін (геміглобінціанід), інтенсивність забарвлення якого пропорційна вмісту гемоглобіну [67]. Вміст метгемоглобіну (% від загального гемоглобіну) оцінювали спектрофотометрично ацетон-ціангідриновим методом, що базується на порівняльному вимірюванні оптичної густини розчинів досліджуваних еритроцитарних мас з вихідною концентрацією оксигемоглобіну

(гемоглобіну) і паралельної проби, в якій весь оксигемоглобін окислений до метгемоглобіну ферріціанідом [67].

Метгемоглобінредуктазну активність (мкмоль/хв. на 1 мг гемоглобіну) визначали за швидкістю відновлення метгемоглобіну в присутності NADH [28].

2.9 Біохімічний аналіз кормових організмів та тканин молоді і плідників риб

Відібрані зразки кормових організмів та личинок риб просушували та зважували, заморожували в рідкому азоті. Гомогенізацію досліджуваного матеріалу проводили при температурі $+4^{\circ}\text{C}$ з використанням гомогенізатора для мікропробірок Eppendorf та фосфатного буферу з рН 7,4. Планктонний дослідний матеріал додатково дезінтегрували на УЗДН-2Т. Оптиманий гомогенат центрифугували при 10000 g та $+4^{\circ}\text{C}$ протягом 15 хв. на центрифугі Biofuga stratos “Herauses” [248]. Визначення біохімічних показників проводили у 6 повторностях.

Для визначення вологості та сухої маси попередньо відважені досліджувані зразки висушували при 60°C протягом 24 годин до набуття постійної маси [213].

Зольність зразків визначали після процедури спалювання у муфельній печі при 550°C протягом 8 годин [140].

Визначення вмісту Ca^{2+} , Na^{+} , K^{+} , $\text{Fe}^{2+/3+}$, Ni^{2+} , Cu^{2+} та Zn^{2+} проводили на атомно-абсорбційному спектрофотометрі С-115-М1 з використанням відповідних стандартів.

Визначення вмісту загальних білків проводили за методом Лоурі [263]. Розрахунок здійснювали за калібрувальною кривою, побудованою з використанням бичачого сироваткового альбуміну.

Визначення амінокислот здійснювали методом іонообмінної рідинно-

колонної хроматографії на автоматичному аналізаторі амінокислот Т 339 (Прага, Чехія) на базі Інституту біохімії імені О.В. Палладіна НАН України. Для реєстрації амінокислот у елюатах використовували детекцію нінгідрином [48]. Якісний склад визначали шляхом порівняння хроматограм досліджуваної та стандартної сумішей амінокислот. Вміст окремих амінокислот виражали у відсотках від загальної маси амінокислот. Визначення Trp не здійснювали. Вираження відсоткового вмісту Asn та Gln проводили сукупно з Asp та Glu, відповідно.

Екстракція ліпідів за методом Фолча. Наважки тканин масою 300-350 мг поміщали в мірні циліндри на 25 мл з 10-15 мл суміші хлороформу і метанолу (2:1). Вміст колби перемішували 3-5 хв, доводили цією сумішшю до мітки, знов перемішували і через 5-10 хв. фільтрували через складчастий фільтр в колбу на 50 мл.

Для видалення водорозчинних неліпідних домішок, вилучених хлороформ-метанольною сумішшю, ліпідний екстракт промивали дистильованою водою. Відбувалось розділення на 3 фази: верхня – водно-метанолова (прозора), нижня – хлороформна (мутна), на межі між ними біла плівка, що містила ліпіди. Для розчинення плівки використовували метанол [192].

Визначення вмісту загальних ліпідів проводили методом із застосуванням фосфованілінового реактиву, принцип якого полягає у тому, що продукти розпаду ненасичених ліпідів після гідролізу сірчаною кислотою взаємодіють з фосфорнованіліновим реактивом з утворенням забарвленої сполуки із максимумом поглинання при 530 нм [243].

Рівень загальної протеолітичної активності у зразках оцінювали при рН 4,8; 7,4 та 9,0 за модифікованим методом Ансона [29]. Метод ґрунтується на гідролізі білка ферментами, що знаходяться в досліджуваному матеріалі, з наступною інактивацією ферменту і

осадженням непрогідролізованого білка ТХО. При визначенні активності кислих протеїназ в якості субстрату застосовували гемоглобін, для нейтральних та лужних – казеїн.

Рівень сумарної ліпазної активності визначали за методом [94], який полягає в спектрофотометричному вимірюванні зміни помутніння суспензії маслинової олії за дії ліпази. Активність ензиму пропорційна кількості жирних кислот, що утворюються під час гідролізу

Рівень амілолітичної активності визначали амілокластичним методом Каравея [155]. Принцип методу ґрунтується на тому, що амілаза каталізує розщеплення крохмалю до декстринів і мальтози, тобто сполук, що не дають кольорової реакції з йодом. Активність ферменту визначали за зменшенням оптичної густини розчину субстрату після його гідролізу ензимом.

Кількісний вміст сумарних каротиноїдів визначали згідно з методикою [31], що базується на екстракції каротиноїдів із проби чи осаду, попередньо отриманого шляхом обробки проби розчинами Карреза I та Карреза II, наступним очищенням виділеного препарату петролейним ефіром та спектрофотометричним визначенням масової концентрації каротиноїдів.

Визначення фракційного складу каротиноїдів проводили за допомогою методу препаративної тонкошарової хроматографії [129].

Розділення пігментів здійснювали на силуфолових пластинах Sorbfil розміром 15×15 см. Використовували такі системи розчинників: гексан-бензол (29:1), ацетон-бензол-петролейний ефір-гексан (10:10:3:10), бензол-ацетон-хлороформ (5:5:4), гексан-бензол (7:3), гексан-ацетон (7:3). Пігменти наносили за допомогою мікропіпетки, відступаючи на 2 см від нижнього краю пластинки та по 1 см від бічних країв. Об'єм нанесеного екстракту становив 0,2-0,8 мл. Розгонку здійснювали у затемнених

хроматографічних камерах із щільно закритою кришкою. Після піднімання вгору фронту розчинника, хроматограму виймали та підсушували. Пігментні зони ідентифіковували за величинами коефіцієнта рухливості каротиноїдів R_f [106, 129, 343].

Визначення концентрації окремих каротиноїдів. Забарвлені пігментні зони, що відповідали каротинам та ксантофілам, знімали з хроматограм скальпелем. Пігменти елюювали ацетоном. Величини оптичної густини каротиноїдів визначали на спектрофотометрі при відповідних довжинах хвиль. Ідентифікацію фракцій каротиноїдів проводили за ідентичністю абсорбційних спектрів поглинання в ацетоні у діапазоні 400-750 нм спектрам каротиноїдів, зазначених у літературі [76, 262, 343, 345].

Визначення жирних кислот проводили методом газової хроматографії на хроматографі HRGC 5300 (Італія) в Інституті біохімії імені О.В. Палладіна НАН України. Використовували скляну набивну колонку 3,5 м, заповнену Chromosorb W/HP з нанесеною 10% рідкою фазою Silar 5CP за програмованої температури 140-250°C [8; 231]. Ідентифікацію індивідуальних жирних кислот проводили за допомогою стандартів фірми Sigma, вміст виражали у процентах від загальної суми.

Активність амінотрансфераз сироватки крові риб визначали динітрофенілгідразиним методом Райтмана-Френкеля [94].

Активність лужної фосфатази визначали фотометричним методом за кількістю звільненого 4-нітрофенолу після зупинки відповідним інгібітором ферментативної реакції [94].

Активність γ –глутамілтранспептидази в сироватці крові вимірювали за допомогою метода із застосуванням глутаміл-4-нітроаніліда [28].

Визначення загального білірубину у сироватці крові здійснювали за методом Ендрашика в присутності кофеїнового реактиву. За різницею між

загальним та зв'язаним (прямим) білірубіном розраховували вміст незв'язаного (непрямого) білірубіну [28].

Визначення тимолової проби здійснювали турбометричним методом Хуерго-Поппера [28].

Визначення вмісту загального холестеролу проводили ферментативним методом, принцип якого базується на тому, що ефіри холестеролу за дії холестеролестерази та холестеролоксидази утворюють пероксид водню, який за наявності 4-амінофенази та хромогену, а також за дії пероксидази формує забарвлену сполуку хінонімін. Інтенсивність забарвлення реакційної суміші пропорційна концентрації холестеролу [28].

Визначення вмісту відновленого аскорбату в еритроцитах риб (мкмоль на 1 мг гемоглобіну) проводили за різницею між вмістом всіх форм аскорбату і суми дегідроаскорбінової і дикетогулонової кислот. Даний метод заснований на взаємодії 2,4-динітрофенілгідразину з дегідроаскорбіновою кислотою з утворенням в сірчаній кислоті відповідного озазону. Дегідроаскорбінова та дикетогулонова кислоти дають червоне забарвлення, що використовується для фотометричного визначення. Для обчислення суми всіх кислот їх окислювали 2,6-дихлорфеніліндофенолятом натрію. Забарвлений розчин фотоколориметрували при довжині хвилі 540 нм [28].

Визначення вмісту відновленого глутатіону (ммоль на 1 мг білка) визначали в реакції з 5,5-дітіо-біс-(2-нітробензойною) кислотою за методом, що ґрунтується на здатності відновленого глутатіону взаємодіяти з реактивом Елмана з утворенням жовтої сполуки (2-нітро-6-меркаптобензойної кислоти), інтенсивність забарвлення якої пропорційна вмісту відновленого глутатіону [85].

Визначення каталазної активності (ммоль/хв на 1 мг білка) оцінювали за швидкістю утилізації пероксиду водню в реакції з

молібдатом амонію та визначали спектрофотометрично при довжині хвилі 410 нм [85].

Визначення вмісту ТБК-активних продуктів проводили методом, що базується на здатності при високій температурі в кислому середовищі малонового альдегіду та інших продуктів пероксидного окислення ліпідів реагувати з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК), утворюючи забарвлений триметиловий комплекс з максимумом поглинання при довжині хвилі $\lambda=532$ нм [4].

Сумарну антиоксидантну активність оцінювали за методом Клебанова [47], який полягає в оцінці здатності гомогенату досліджуваних тканин до пригнічення Fe^{2+} -залежного ПОЛ у ліпопротеїнах жовтка (ЖЛП) *in vitro*. Рівень сумарної АОО розраховували в у.о. як співвідношення D_{532} у дослідних пробах до контрольних проб.

Визначення рівня карбонільних похідних білків проводили методом, що базується на тому, що в процесі окисної модифікації білків в радикалах залишків аліфатичних амінокислот утворюються альдегідні та кетонні групи. Останні взаємодіють з 2,4-динітрофенілгідразином (ДНФГ) з утворенням 2,4 динітрофенілгідразонів. Альдегідо- і кетонпохідні нейтрального характеру реєстрували на СФ при 370 нм. Вміст карбонільних похідних обраховували з допомогою молярного коефіцієнту екстинції $21000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ і виражали в нмоль/мг білка [306].

Визначення вмісту білкових HS-груп здійснювали за методом, заснованим на використанні реагенту Елмана – 5,5'-дітіос-2-нітробензойної кислоти, який реагує з SH-групами, утворюючи змішаний дисульфід та вивільняючи при цьому тіонітрофелний аніон, кількість якого прямо пропорційна кількості вільних SH-груп білків, що прореагували з реактивом Елмана. Результати обраховували з використанням коефіцієнту молярної екстинції ($11400 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) та виражали в нмоль/мг білка [289].

2.10. Проведення гістологічних досліджень

Матеріал для гістологічних досліджень фіксували 4% нейтральним формаліном. Для виготовлення гістологічних зрізів тканини заливали в парафінові блоки згідно стандартної методики [66]. Зрізи з парафінових блоків виготовляли на ротаційному мікротомі МПС-2. Фарбували гістологічні зрізи гематоксиліном та еозином.

Для виявлення ліпідів використовували методику заливки тканин у желатин. Для заливки використовували 12,5% та 25% розчини желатину на 1% дистильованій карболовій воді. Фіксований матеріал після промивки в проточній воді поміщали в 12,5% розчин желатину на 3-6 годин, а потім у 25% розчин на 6 – 24 години при температурі 37°C. Виготовлені желатинові блоки ущільнювали в 20% формаліні (3 – 6 годин), після чого зберігали в 10% формаліні. після нарізання зрізів желатин видаляли 10% розчином КОН. після промивки зрізи фарбували суданом III для виявлення ліпідних включень [88].

Цитометрію проводили з використанням встановленої на мікроскоп цифрової камери та програмного забезпечення Micam 2.0.

2.11. Статистичний аналіз даних

Статистичну обробку результатів здійснювали згідно із загальноприйнятою методикою з використанням програмного забезпечення Microsoft Excel та методу однофакторного дисперсного аналізу ANOVA Tukey HSD test в пакеті прикладних програм STATISTICA 6.0 та 10.0 [105]. Відмінності отриманих результатів вважали достовірними при рівні значимості $p \leq 0,05$ за критерієм Ст'юдента.

РОЗДІЛ. 3. ХАРАКТЕРИСТИКА ІХТІОФАУНИ КАРПАТСЬКОГО РЕГІОНУ В КОНТЕКСТІ ЗАПРОВАДЖЕННЯ БІОТЕХНОЛОГІЇ ВІДТВОРЕННЯ АБОРИГЕННИХ ВИДІВ

3.1. Таксономічна структура іхтіофауни Українських Карпат та Передкарпаття

Гідроекосистеми Українських Карпат та Передкарпаття характеризуються доволі великим видовим різноманіттям рибоподібних та риб. Так, за результатами власних спостережень та літературними даними іхтіофауна басейнів рік Дністер, Прут та Сірет в межах регіону досліджень представлена 78 видами з 19 родин, які об'єднані в 11 рядів (рис. 3.1.1).

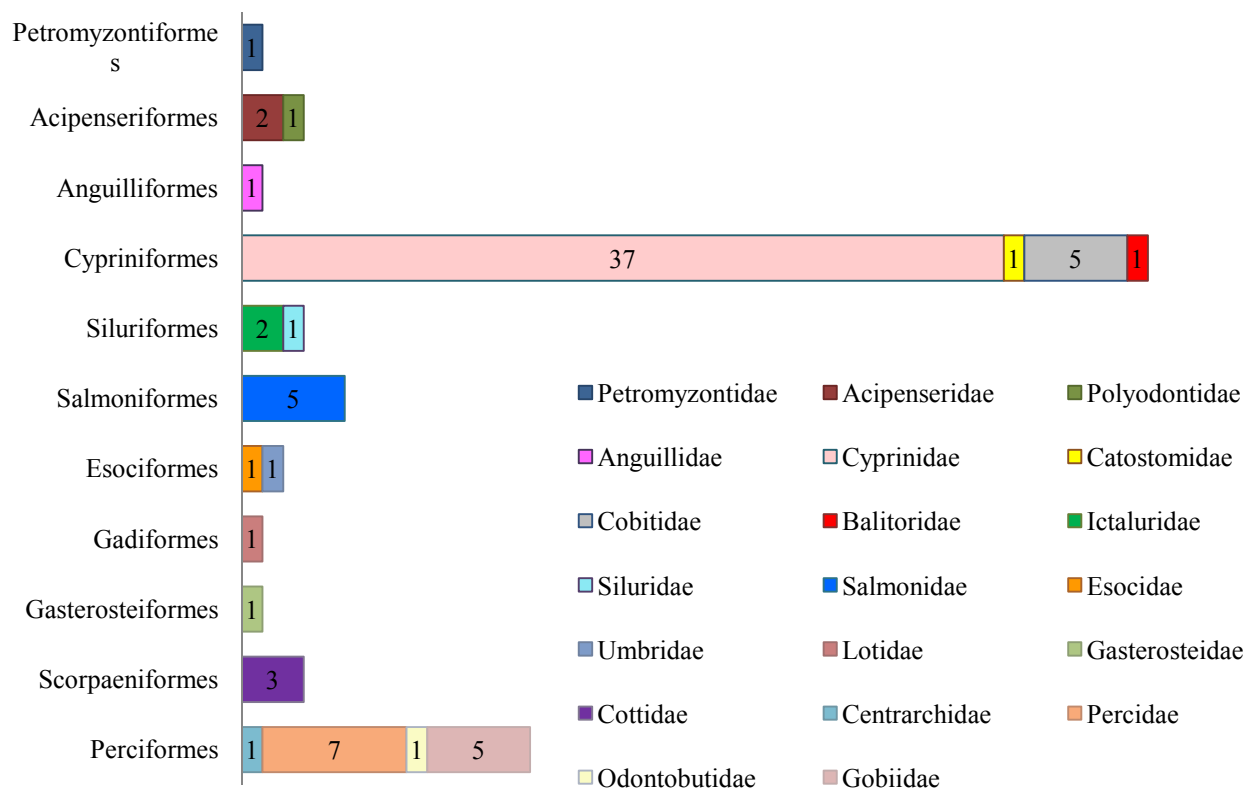


Рис. 3.1.1. Кількісне співвідношення видів у родинях та родин у рядях у таксономічній структурі іхтіофауни басейнів рік Дністер, Прут та Сірет в межах Карпатського регіону України

Таким чином, у наш час у водоймах регіону зосереджено 57% видів міног та риб, які зустрічаються у прісних водах України [288], та близько 30% від загального видового різноманіття іхтіофауни країни [71; 72]. Це без врахування видів, які не реєструються в регіоні вже протягом тривалого часу.

Таке видове багатство пов'язане з великою різноманітністю умов існування риб. Формуванню великій кількості екологічних ніш сприяє надзвичайно розгалужена гідрографічна сітка карпатських водотоків [81] та значне різноманіття ландшафтів, через які вони протікають.

Найбільше іхтіологічне біорізноманіття характерне для басейну Дністра (табл. 3.1.1) – тут зареєстровано 89 % від загальної кількості відмічених протягом усієї історії фауністичних досліджень в регіоні видів риб.

Таблиця 3.1.1

**Співвідношення кількості видів риб у басейнах рік Українських
Карпат та Передкарпаття**

Види	Басейн ріки			Всі басейни
	Дністер	Прут	Сірет	
аборигенні зниклі	4	1	-	4
аборигенні рецентні	55	44	32	64
адвентивні	13	11	2	14
всього зареєстровано видів	72	56	34	82

Як вже було зазначено вище, у наш час іхтіофауна регіону досліджень представлена 78 видами, 87% з яких зустрічаються в басейні Верхнього та Середнього Дністра. Внаслідок дії антропогенного пресингу іхтіофауна досліджуваної ділянки басейну Дністра втратила близько 7% свого біорізноманіття, а 18% представлено адвентивними видами.

Найменшої трансформації зазнала іхтіофауна української частини басейну Сірету: жоден з видів не зник, натомість з'явилося два види-вселенці.

3.2. Созологічна характеристика іхтіофауни Українських Карпат та Передкарпаття

У результаті негативного впливу господарської діяльності на водні об'єкти протягом останніх ста років спостерігається суттєва трансформація природної структури гідроекосистем, а отже, умов існування їх мешканців, в тому числі риб. Це викликає помітні зміни в іхтіофауні України, які проявляються в зменшенні частки або й повному зникненні окремих аборигенних видів [70; 134].

В умовах техногенної трансформації природного середовища збіднення зональних фауністичних комплексів проходить як через деградацію популяцій колись звичайних видів, так і внаслідок втрати раритетної частини біоти. Відбувається поступовий перехід зональних комплексів у стан "сірої біоти", яку формують адвентивні та азональні аборигенні види. В свою чергу, елімінація раритетної частини фауни призводить до розмивання меж зональних комплексів та повної втрати унікальності як зональних, так і локальних багатовидових угруповань [42].

Попри негативні тенденції до збіднення іхтіофауни України у водоймах басейнів Дністра, Пруту та Сірету збереглися достатньо чисельні популяції видів, які в інших частинах країни стали рідкісними або взагалі зникли [112]. Так, частка раритетного компоненту в іхтіофауні Карпатського регіону складає більше 50% від загальної кількості присутніх тут видів (табл. 3.2.1).

Таблиця 3.2.1

Співвідношення видів риби, занесених до різних охоронних списків, у басейнах рік Українських Карпат та Передкарпаття [112]*

	Басейн ріки						Всі басейни	
	Дністер		Прут		Сірет			
	n	%	n	%	n	%	n	%
ЧКУ	15	22,1	12	21,8	7	20,6	19	24,4
IUCN	4	5,9	3	5,5	-	-	5	6,4
CITES	2	2,9	-	-	-	-	2	2,6
BC (Bern Convention)	24	35,3	21	38,2	15	44,1	32	41,0
Всього раритетних видів	32	47,1	26	47,3	18	52,9	40	51,3

* n – абсолютна кількість видів, % – частка від кількості наявних у межах басейну видів

До складу сучасної іхтіофауни басейнів Дністра, Пруту та Сірету в межах Карпатського регіону входить 19 занесених до третього видання Червоної книги України видів (табл. 3.2.2), об'єднаних у 7 родин із 7 рядів, у той час як до останнього видання Червоної книги включено представників 23 родин із 13 рядів риби [110; 112].

Загалом, частка червонокнижних складає четверту частину від кількості всіх видів міног та риби в досліджуваному регіоні та 26.7% від загальної кількості червонокнижних видів міног та риби в Україні або 51.4% червонокнижних видів, які реєструвались у прісних водоймах країни [2]. Окрім того, досліджуваний регіон до зарегулювання русел (у першу чергу основного русла Дністра) входив у межі ареалів ще 4 прохідних видів осетрових риби (табл. 3.2.2).

Найбільшою кількістю червонокнижних видів у регіоні дослідження представлена родина Cyprinidae – 9 видів, на другому місці – родина Percidae з 4 видами, Salmonidae – 2 види, Umbridae, Lotidae, Acipenseridae та Petromyzontidae – по 1 виду.

Із 8 зазначених у Червоній книзі родин, до складу яких входять прісноводні види, лише родина в'юнових не представлена в червонокнижній іхтіофауні регіону.

Таблиця 3.2.2

**Поширення занесених до Червоної книги України видів риб у
басейнах рік Українських Карпат та Передкарпаття***

	Басейни рік		
	Дністер	Прут	Сірет
<i>Acipenser gueldenstaedtii</i> Brandt & Ratzeburg, 1833 ^(MD)	ВР		
<i>Acipenser nudiiventris</i> Lovetsky, 1828	ЗНЛ		
<i>Acipenser ruthenus</i> Linnaeus, 1758 ^(MD)	ЗН	ЗН	
<i>Acipenser stellatus</i> Pallas, 1771 ^(MD)	ВР		
<i>Alburnoides rossicus</i> Berg, 1924 ^(MD)	ЗН		
<i>Barbus barbus</i> (Linnaeus, 1758)	ВР	ВР	ВР
<i>B. carpathicus</i> Kotlík, Tsigenopoulos, Ráb & Berrebi, 2002 ^(MD)	ВР	ВР	ВР
<i>Barbus waleckii</i> Rolik, 1970	НВ		
<i>Carassius carassius</i> (Linnaeus, 1758) ^(MD)	ВР	ВР	
<i>Eudontomyzon mariae</i> (Berg, 1931) ^(MD)	ЗН	ЗН	ЗН
<i>Gymnocephalus acerina</i> (Gmelin, 1789)	ЗН		
<i>Gymnocephalus schraetser</i> (Linnaeus, 1758) ^(MD)		ВР	
<i>Hucho hucho</i> (Linnaeus, 1758) ^(MD)		ЗН	
<i>Huso huso</i> (Linnaeus, 1758) ^(MD)	ЗН		
<i>Leuciscus leuciscus</i> (Linnaeus, 1758)	ВР	ВР	
<i>Lota lota</i> (Linnaeus, 1758) ^(MD)	ВР	ВР	ВР
<i>Romanogobio kesslerii</i> (Dybowski, 1862)	ВР	ВР	ВР
<i>Romanogobio uranoscopus</i> (Agassiz, 1828)			ЗН
<i>Rutilus frisii</i> (Nordmann, 1840) ^(MD)	ЗН		
<i>Thymallus thymallus</i> (Linnaeus, 1758)	ВР	ВР	
<i>Umbra krameri</i> Walbaum, 1792 ^(MD)	Р	Р	
<i>Zingel streber</i> (Siebold, 1863) ^(MD)		Р	Р
<i>Zingel zingel</i> (Linnaeus, 1766) ^(MD)	Р		

* Примітка: скорочення відповідають природоохоронному статусу в Червоній книзі [2]; у заштрихованих комірках – рецентні види; червоним виділено види, зниклі у відповідній акваторії; ^(MD) – види, занесені до Червоної книги Республіки Молдова [180].

Незважаючи на те, що абсолютна кількість червонокнижних видів у басейнах Дністра, Пруту та Сірету різна, їх відносна частка у рибному населенні кожного з басейнів приблизно однакова – дещо більша 20% (табл. 3.2.1).

У водоймах досліджуваних басейнів у межах Карпатського регіону України серед червонокнижних переважають види з достатньо високим природоохоронним статусом – "Вразливий" (рис. 3.2.1).

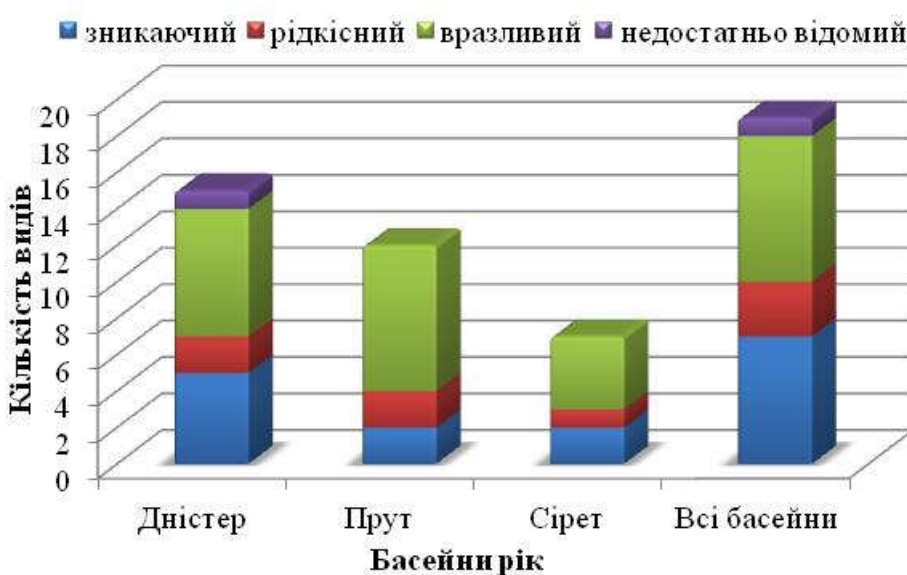


Рис. 3.2.1. Кількісне співвідношення червонокнижних видів за їх природоохоронним статусом

Варто зазначити, що із 24 видів міног та риб, занесених до третього видання Червоної книги Республіки Молдова [180], у наш час в західноукраїнських частинах басейнів Дністра та Пруту зареєстровано 18 видів (без урахування російського осетра), 12 із цих видів є спільними для Червоних книг обох держав (табл. 3.2.2).

Україна є підписантом низки міжнародних угод у сфері охорони навколишнього природного середовища та збереження біорізноманіття, зокрема, Конвенції про біологічне різноманіття, Конвенції про міжнародну

торгівлю видами дикої фауни і флори, що перебувають під загрозою зникнення (CITES), Конвенції про збереження мігруючих видів диких тварин (Боннської конвенції), Конвенції про збереження дикої флори і фауни та природних середовищ існування в Європі (Бернської конвенції) тощо. Виконання взятих на себе державою відповідних зобов'язань не можливе без моніторингової оцінки стану популяцій окремих видів та багатовидових угруповань. Це у свою чергу вимагає інвентаризації наявного біорізноманіття.

В іхтіофауні досліджуваних акваторій зареєстровано 5 видів, занесених до червоного списку IUCN як такі, що перебувають під загрозою зникнення (табл. 3.2.3).

Таблиця 3.2.3

Поширення видів риб, занесених до червоного списку IUCN як такі, що перебувають під загрозою зникнення: охоронні категорії та критерії*

	Басейни рік	
	Дністер	Прут
<i>Acipenser gueldenstaedtii</i>	CR (A2bcde)	
<i>Acipenser nudiiventris</i>	CR (A2cde)	
<i>Acipenser ruthenus</i>	VU (A2cde)	VU (A2cde)
<i>Acipenser stellatus</i>	CR (A2cde)	
<i>Anguilla anguilla</i>	CR (A2bd+4bd)	
<i>Cyprinus carpio</i>	VU (A2ce)	VU (A2ce)
<i>Hucho hucho</i>		EN (B2ab(ii,iii))
<i>Huso huso</i>	CR (A2bcd)	
<i>Umbra krameri</i>	VU (A2c)	VU (A2c)

* Примітка: у заштрихованих комірках – рецентні види; червоним виділено види, зниклі у відповідній акваторії; значення охоронних категорій, згідно [224].

Характер розподілу зазначених видів за басейнами відрізняється від поширення червонокнижних видів, яких найбільше в басейні Дністра. Види зі списку IUCN відсутні в українській частині басейну Сірету, а у

відповідних частинах басейнів Пруту та Дністра по 3 види, 1 з яких є спільним для обох басейнів.

Варто зазначити, що ні віднесений за версією IUCN до категорії вразливих сазан, ні вугор, стан якого визначений як критичний, не включені до останнього видання Червоної книги України.

З усього видового різноманіття риб регіону під обмеження, запроваджені Конвенцією про міжнародну торгівлю видами дикої фауни і флори, що перебувають під загрозою зникнення (CITES), потрапили всього 2 види (табл. 3.2.1) – стерлядь прісноводна (*A. ruthenus*) та річковий вугор європейський (*A. anguilla*) [163].

Найбільша кількість видів зі складу іхтіофауни карпатської частини басейнів Дністра, Пруту та Сірету знаходиться під охороною Конвенції про збереження дикої флори і фауни та природних середовищ існування в Європі або так званої Бернської конвенції (табл. 3.2.3).

Таблиця 3.2.4

Поширення видів риб, занесених до II та III додатків Бернської конвенції [165] з уточненнями [197]*

1	Басейни рік		
	Дністер	Прут	Сірет
2	3	4	
<i>Acipenser ruthenus</i> Linnaeus, 1758	III	III	
<i>Acipenser stellatus</i> Pallas, 1771	III		
<i>Alburnoides bipunctatus</i> (Bloch, 1782)		III	III
<i>Alburnoides rossicus</i> Berg, 1924	III		
<i>Ballerus ballerus</i> (Linnaeus, 1758)	III		
<i>Ballerus sapa</i> (Pallas, 1814)	III		
<i>Carassius carassius</i> (Linnaeus, 1758)	III	III	
<i>Chondrostoma nasus</i> (Linnaeus, 1758)	III	III	III
<i>Cobitis elongatoides</i> Bacescu et Maier, 1969		III	III
<i>Cobitis taenia</i> Linnaeus, 1758	III	III	III
<i>Cottus poecilopus</i> Heckel, 1837	III	III	III
<i>Eudontomyzon mariae</i> (Berg, 1931)	III	III	III
<i>Gymnocephalus schraetser</i> (Linnaeus, 1758)		III	
<i>Hucho hucho</i> (Linnaeus, 1758)		III	
<i>Huso huso</i> (Linnaeus, 1758)	III		
<i>Leucaspis delineatus</i> (Heckel, 1843)	III	III	III

Продовження таблиці 1.2.4

1	2	3	4
<i>Leuciscus (Aspius) aspius</i> (Linnaeus, 1758)	III	III	III
<i>Misgurnus fossilis</i> (Linnaeus, 1758)	III	III	III
<i>Neogobius fluviatilis</i> (Pallas, 1814)	III		
<i>Pelecus cultratus</i> (Linnaeus, 1758)	III		
<i>Ponticola kessleri</i> (Günther, 1861)	III		
<i>Rhodeus amarus</i> (Bloch, 1782)	III	III	III
<i>Romanogobio belingi</i> (Slastenenko, 1934)	III		
<i>Romanogobio kesslerii</i> (Dybowski, 1862)	III	III	III
<i>Romanogobio uranoscopus</i> (Agassiz, 1828)			III
<i>Romanogobio vladykovi</i> Fang, 1943		III	
<i>Rutilus frisii</i> (Nordmann, 1840)	III		
<i>Sabanejewia baltica</i> Witkowski, 1994	III		
<i>Sabanejewia bulgarica</i> (Drenski, 1928)		III	III
<i>Silurus glanis</i> Linnaeus, 1758	III	III	
<i>Thymallus thymallus</i> (Linnaeus, 1758)	III	III	
<i>Umbra krameri</i> Walbaum, 1792	II	II	
<i>Vimba vimba</i> (Linnaeus, 1758)	III	III	III
<i>Zingel streber</i> (Siebold, 1863)		II	II
<i>Zingel zingel</i> (Linnaeus, 1766)	II		

* Примітка: у заштрихованих комірках – рецентні види; червоним виділено види, зниклі у відповідній акваторії.

Як відомо, Бернська конвенція залишилась мало не єдиним загальноєвропейським документом, який визначає природоохоронний статус прісноводних видів риби, оскільки у наш час Європейський червоний список 1991 року втратив свою актуальність [26]. Однією з незручностей при оперуванні списками видів, занесених у додатки II та III Бернської конвенції є те, що після їх прийняття були проведені ревізії багатьох таксонів, у результаті чого був змінений їх статус. Усунення даних недоліків проведено при спробі створення єдиного Європейського червоного списку прісноводних риби [197] на основі списку IUCN та списку видів, які охороняються Бернською конвенцією [110; 112].

1.3. Оцінка стану рибних запасів у водотоках Українських Карпат та Передкарпаття та їх рибогосподарська експлуатація

Ефективне управління водними біоресурсами вимагає інтегральної оцінки стану рибних запасів за басейновим принципом. Така оцінка включає як якісні показники, що стосуються видового різноманіття гідробіонтів, так і кількісні, що відображають ступінь розвитку їх угруповань і дозволяють розрахувати в подальшому допустимі господарські та рекреаційні навантаження, організувати ефективну природоохоронну роботу, розробити заходи з відновлення порушених гідроекосистем.

Проведені іхтіологічні дослідження, а також аналіз браконьєрських та комерційних уловів дозволив оцінити рибопродуктивність водойм в межах Українських Карпат та Передкарпаття [114; 119]. Найвищими показниками рибопродуктивності характеризуються Дністровське водосховище та середня ділянка течії основного русла Дністра, найнижчими – гірські частини рік (рис. 3.3.1).

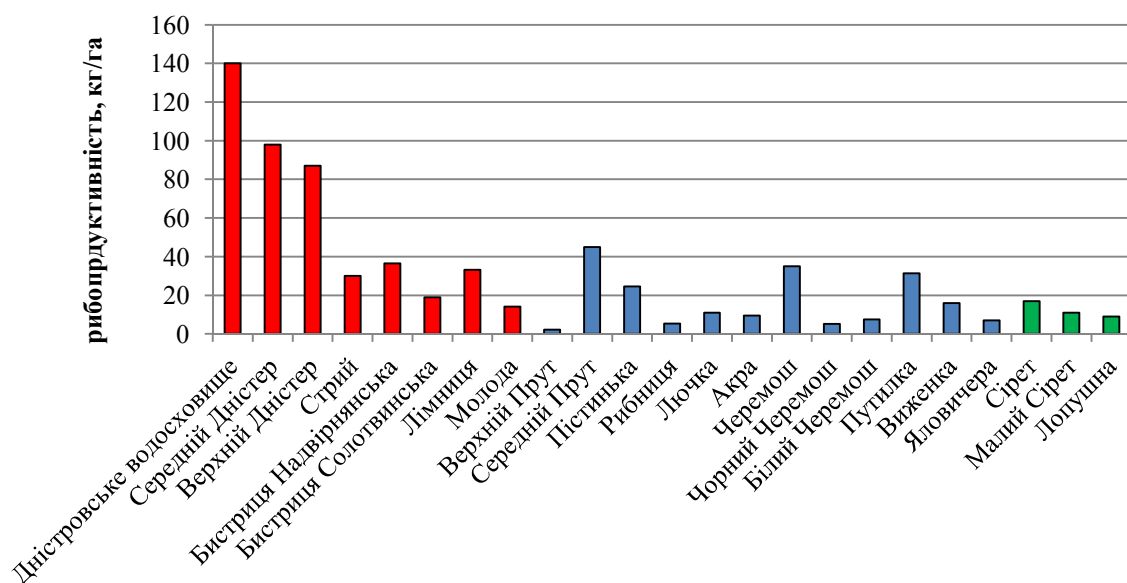


Рис. 3.3.1. Рибопродуктивність в річках басейнів Дністра, Пруту та Сірету в межах Карпатського регіону України

Як видно з наведених даних, рибопродуктивність навіть у зарегульованих ділянках річок істотно менша від нормативного значення 600кг/га, розрахованого для зони рибництва «Лісостеп та Прикарпаття». За даними досліджень, проведених різними авторами в середині 20-го століття рибопродуктивність річкових ділянок в досліджуваному регіоні коливалась в межах 88-156 кг/га [17; 133].

Природна рибопродуктивність водойм є відображенням якості водного середовища як оселища, і залежить від чотирьох основних чинників (рис. 3.3.2).

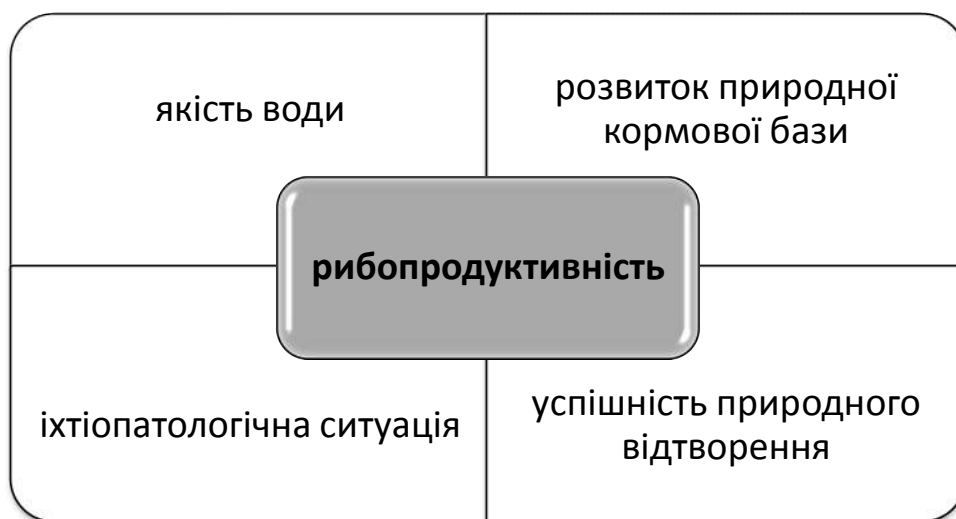


Рис. 3.3.2. Чинники, що визначають величину природної рибопродуктивності водних об'єктів

Гідрохімічні характеристики є одними з основних маркерів екологічного стану водойм і є визначальними у формуванні відповідних умов існування того чи іншого виду гідробіонтів. Аналіз можливих причин низької рибопродуктивності не виявив критичних проблем із забрудненням водного середовища у досліджуваному регіоні. Так, значення основних хімічних показників якості води знаходився в допустимих згідно рибогосподарських нормативів межах [69], а сумарний коефіцієнт комплексного забруднення води дозволяє віднести

досліджувані гідроекосистеми до категорії «досить чисті» [36; 61; 120; 111].

Наявна паразитологічна ситуація за результатами наших досліджень у річках та водосховищах Карпатського регіону України також не є причиною низької рибопродуктивності. Попри достатньо велику видову різноманітність іхтіопаразитів кількісні показники зараження у переважної більшості видів риб у регіоні невисокі [23; 24; 73; 113].

Безпосередньо природна рибопродуктивність водойм за умов відсутності надмірного негативного впливу інших екологічних чинників визначається ступенем розвитку угруповань природної кормової бази.

Важливою складовою загальної біологічної продукції гідроекосистем є фітопланктон. У складі альгофлори гірських приток верхнього Дністра і Прута (річки Стрий, Лімниця, Черемош) нами виявлено 80 видів водоростей і ціанобактерій, серед яких головна роль відведена діатомеям – 52% від загального числа видів [125–127]. Зелені водорості становлять 34%, евгленові – близько 5%, синьо-зелені – 9% від загального видового різноманіття. У фітопланктоні середнього Прута діатомові складають 60%, зелені – 21%, ціанобактерії – близько 11%. У Дністрі спостерігається подібна картина, однак вниз за течією поступово зростає частка синьо-зелених – до 15–20%.

Слід відмітити, що досліджувані річки як за видовим складом фітопланктону, так і за характером сезонних змін особливо не відрізняються між собою. Протягом усього вегетаційного періоду основу фітопланктону становлять діатомові водорості, що, як відомо, характерно для гірських річок.

У складі весняного фітопланктону приток Прута і Дністра виявлено 36 видів: 75% - діатомові (види родів *Synedra* Ehrenberg, *Cymbella* CA Agardh, *Navicula* Bory, *Pinnularia* Ehrenberg, *Gomphonema* Ehrenberg),

зелені - 17%, з яких домінували види *Ankistrodesmus acicularis* (A. Br.) Korch., *Oocystis rupestris* Kirchner, з синьо-зелених зустрічалися *Anabaena contorta* Bachm., *Oscillatoria limosa* Agardh., *Dactyloccopsis raphidioides* Hantzsch.

Показники чисельності та біомаси фітопланктону в досліджуваних річках у весняний період були досить високими. Сумарна чисельність фітопланктону коливалася від 300,0 тис.кл / л з біомасою 244,7 мг/м³ в р. Свіча (басейн Дністра) до 783,3 мг/м³ з біомасою 505,5 мг/м³ в р. Лімниця (басейн Дністра). Найбільшої чисельності досягали діатомові в річках Лімниця та Бистриця і становили відповідно 603,3 тис. кл/л – 651,6 тис.кл/л з біомасою 409,0-838,0 мг/м³.

У літній період видове різноманіття фітопланктону зростає до 63 видів. Найбільш різноманітною групою в притоках, як і в основному руслі Дністра і Прута, є діатомові – 63%. Значно зростає частка зелених водоростей – до 27%. Синьо-зелені, як і навесні, представлені 4 видами.

У р. Черемош (басейн Пруту) істотно переважали: з діатомових – *Pinnularia viridis* (Nitzsch) Ehr., *Synedra ulna* (Nitzsch) Ehr., *S. acus* (Kütz.), *Diatoma vurgare* Bory, *Navicula rhynchocephala* Kütz., *N. cryptocephala* Kütz.; із зелених - *Cosmarium margaritifera* Menegh.; з синьо-зелених – *D. raphidioides*.

У річках Стрий та Бистриця у видовому складі літнього фітопланктону значно зросла частка зелених водоростей, серед яких переважали *A. acicularis*, *O. rupestris*, *Westella botryoides* (W. West) D. Wildemann. Загальна чисельність їх становила 266,1 тис. кл/л з біомасою 251,0 мг/м³ в р. Бистриця. З евгленових виявлені всього три види: *Phacus caudatus* Huebner, *P. longicauda* (Ehr.) Dujardin, *Euglena oxyuris* Schmarda. Переважною групою водоростей влітку все ж були діатомові. Їх

чисельність у цей час склала 1105,1 і 881,0 тис. кл./л, серед яких найбільше було представників родів *Synedra*, *Pinnularia*, *Navicula*, *Nitzschia* Hass.

Часті паводки створюють несприятливі умови для розвитку фітопланктону у гірських річках. З підвищенням каламутності води кількість видів фітопланктону знижується до 4 (р. Черемош) і 10 (р. Свіча), чисельність яких не перевищує 50,0 і 20,0 тис. кл/л за рахунок випадково-планктонних форм діатомових водоростей.

Альгофлора р. Лімниця характеризується найбільш різноманітним видовим складом з усіх обстежених нами гірських річок і налічує 58 видів. Ведучими були діатомові, головним чином *S. ulna*, *N. cryptocephala*, *P. viridis*, *Cocconeis pediculus* Ehrenb., *Cymbella cuspidata* Kütz. Загальна чисельність фітопланктону за літній період становила 1137,8 тис.кл/л при біомасі 1851,9 мг/м³.

У цілому, в літній період у всіх притоках Дністра і Прута, як у видовому відношенні, так і за чисельністю переважали діатомові водорості.

В осінній період видове різноманіття фітопланктону в досліджуваних річках знизилося до 61 виду, що, безсумнівно пов'язано з низькими температурами води. Найбільше різноманіття восени, так само як і влітку, виявлено в р. Лімниця – 40 видів.

Значно скорочується число видів фітопланктону в р. Бистриця – 17 видів, що пояснюється значним забрудненням її комунально-побутовими стічними водами м. Івано-Франківськ.

У складі осіннього фітопланктону переважаючими залишалися діатомові водорості. Винятком в цьому відношенні є лише р. Свіча, де за кількістю видів переважають зелені водорості, головним чином *A. acicularis*, *O. rupestris*. Синьо-зелені представлені в основному видами *Oscillatoria limosa* (Roth.) C. agardh, *A. contorta*, *Microcystis aeruginosa*

(Kütz.), *D. raphidioides*. Максимальна чисельність фітопланктону в цей період спостерігалася в р. Свіча і становила 645,0 тис.кл/л, мінімальна в р. Черемош – 360,0 тис. кл/л з явним переважанням діатомових водоростей. З інших таксономічних груп помітно виділялися зелені. Максимальної чисельності вони досягали в р. Стрий (193,6 тис.кл / л з біомасою 120,0 мг/м³).

Фітопланктон гірських приток Дністра і Прута слабо розвинений, що пов'язано зі специфічними умовами цих річок на відміну від річок рівнинного типу. Для фітопланктону досліджуваних річок характерна гомогенність видового складу на всій довжині русла, що пов'язано зі значними швидкостями течії і турбулізацією води. Реофільні форми діатомових водоростей є постійно домінуючими, причому такі види як *S. ulna*, *S. acus*; *N. cryptocephala*; *P. viridis*, *Cyclotella comta* Kütz. є загальними для всіх досліджених приток. Розвиток і розподіл фітопланктону в басейні верхнього Дністра і Прута обумовлено специфічними особливостями екологічних чинників, властивих річках гірського типу. До числа основних факторів, що лімітують розвиток фітопланктону можна віднести: низьку температуру води, високу швидкість течії, інтенсивну турбулентність потоку, нестійкість його гідрологічного режиму, обумовлену атмосферними опадами.

Ступінь розвитку зоопланктону в гірських та передгірських ділянках основних русел Дністра, Пруту та Сірету низький. Біомаса зоопланктону коливається від кількох десятків міліграм до 1-1,5г/м³ [82; 131].

Значного розвитку зоопланктон набуває у зарегульованих ділянках рік, зокрема у Дністровському водосховищі. Нами показано, що загальна біомаса зоопланктону в літній період тут складає 2,4–2,7 г/м³.

Зоопланктоценоз середньої ділянки Дністровського водосховища за структурою можна віднести до озерного типу. Домінантними видами є *Thermocyclops oithonoides*, *Daphnia cuculata* і *Bosmina coregon*.

Враховуючи те, що зоопланктон є основою кормової бази для личинок риб, низький рівень його розвитку в ріці може бути одним із лімітуючих чинників у виживанні молоді реофільних риб. У водосховищі ж, навпаки, формуються сприятливі кормові умови для нагулу молоді риб.

Види риб, що населяють річки, у переважній більшості за характером живлення відносяться до бентофагів. Відповідно, рівень розвитку угруповань макрозообентосу є визначальним у формуванні рибопродуктивності річкових систем. Основу угруповань макрозообентосу в гірських та передгірських ділянках рік складають личинки амфібіотних комах та бокоплави. Так, в Черемоші домінантною групою в структурі зообентосу є личинки одноденок (рис. 3.3.3).

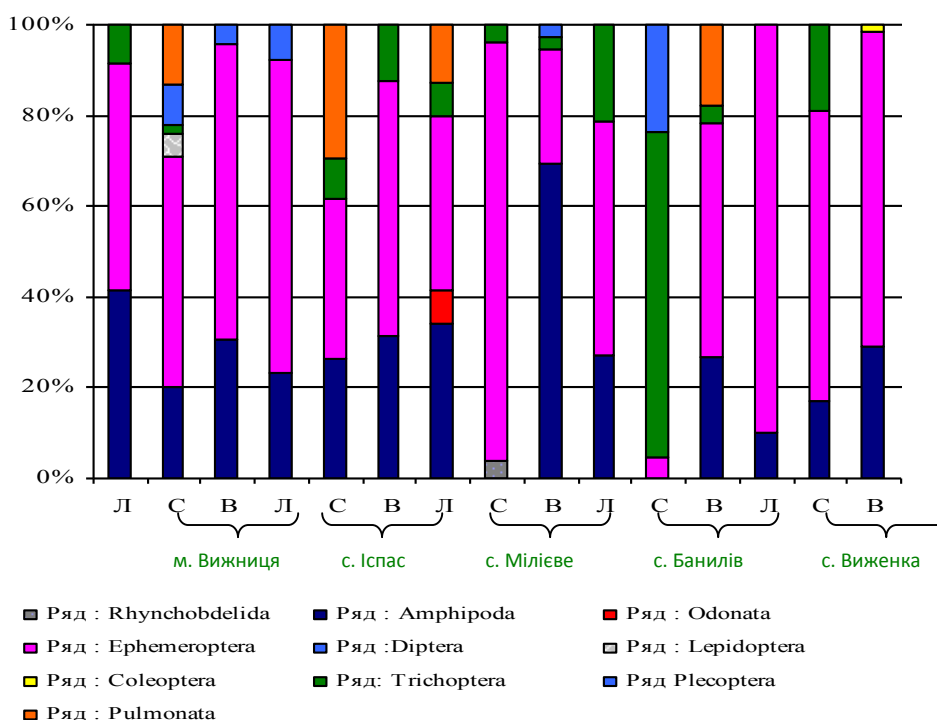


Рис. 3.3.3. Динаміка кількісного співвідношення таксономічних груп в угрупованнях макрозообентосу в гірських ділянках річок на прикладі р. Черемош та р. Виженка, % від загальної кількості особин

Окрім личинок одноденок, вагому частку в структурі донних угруповань займають бокоплави. У річці Виженка спостерігається подібна до Черемошу структура домінантності бентоценозів.

Як видно з рисунку 3.3.3 донні угруповання представлені переважно так званим «м'яким бентосом», який найкраще засвоюється рибами. Біомаса макрзообентосу у гірських та передгірських ділянках досліджуваних басейнів рік коливається в різні роки переважно в межах від 2 до 30 г/м², що також засвідчують і інші автори [57].

Значно вищого рівня розвитку набуває зообентос у Дністровському водосховищі. Тут його біомаса згідно наших досліджень може досягати до 2 і навіть 10 кг/м² [37]. Така висока біомаса досягається в основному за рахунок двостулкового молюска дрейсени. Основними споживачами дрейсени у водосховищі є плітка та вирезуб. Стрімке збільшення чисельності останнього у водосховищі протягом останніх 10–15 років найбільш імовірно пов'язане саме з масовим розвитком дрейсени.

Потенційна рибопродуктивність, розрахована за рівнем розвитку природної кормової бази, більше, ніж утричі перевищує фактичну (рис. 3.3.4).

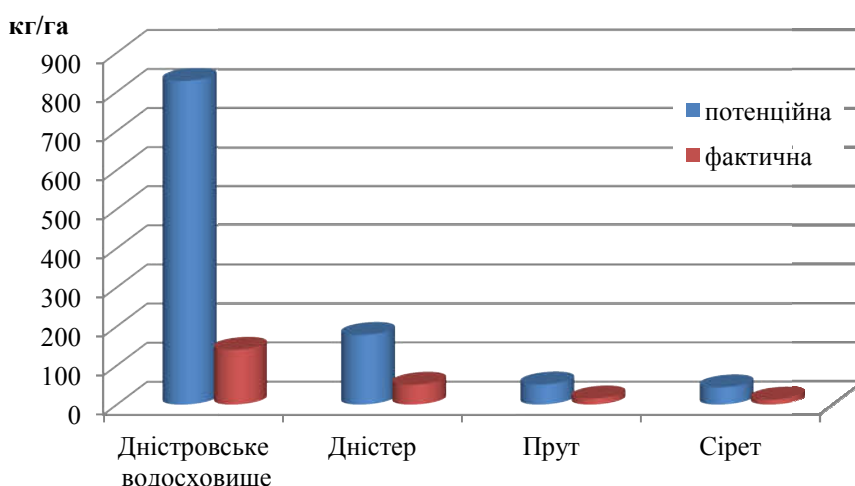


Рис. 3.3.4. Потенційна та фактична рибопродуктивність у водоймах основних басейнів Карпатського регіону

Очевидно, низький рівень рибних запасів спричинений порушенням процесів природного відтворення в популяціях більшості видів риб.

Свідченням цього може служити аналіз ефективності нересту за структурою угруповань молоді на основі даних, отриманих за результатами малькових обловів. Так, в Дністровському водосховищі, найбільшому в Західному регіоні України, щільність молоді фітофільних видів на мілководдях влітку незначна (табл. 3.3.1).

Таблиця 3.3.1

Склад уловів малькової волокуші (тканки) на Дністровському водосховищі у 2018 році, екз./100м²

	Пригородок	Анадоли	Дарабанське плесо	Мошанець	Вороновиця	Дністрівка	Непоротово
<i>Alburnus alburnus</i>	746,0	50,0	14,0	54,0	1,0	27,0	23,6
<i>Chondrostoma nasus</i>					0,7		
<i>Cyprinus carpio</i>					0,3		
<i>Squalius cephalus</i>	2,0			1,5			
<i>Leuciscus (Aspius) aspius</i>	16,0		2,0	0,5	5,0	1,0	
<i>Rutilus rutilus</i>	6,0		23,0	1,5	1,3	2,0	
<i>Rutilus frisii</i>			1,0	1,5	5,7		0,5
<i>Barbus barbus</i>	4,0			1,5	0,7		
<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	8,0					3,0	
<i>Rhodeus amarus</i>						3,0	
<i>Leucaspis delineatus</i>				0,5			
<i>Romanogobio sp.</i>		1,5					
<i>Carassius gibelio</i>	14,0			1,0			
<i>Pseudorasbora parva</i>				0,5			
<i>Perca fluviatilis</i>		0,5					
<i>Gasterosteus aculeatus</i>	2,0						
<i>Neogobius fluviatilis</i>		3,0	6,0	3,0		5,0	
<i>Babka gymnotrachelus</i>				0,5			
Всього	798,0	55,0	46,0	66,0	14,7	41,0	24,1

Це пояснюється тим, що Дністровське водосховище та прилегла до нього вище за течією ділянка ріки лежать в так званому Дністровському каньйоні, тобто значна частина берегової лінії представлена стрімкими скелями. Відповідно площа пологих, порослих травою берегів, на яких в

разі затоплення міг би відбуватись нерест фітофілів, невелика. Крім того, негативно впливає на природне відтворення представників даної екологічної групи риб різке зниження рівня води у весняний період внаслідок роботи Дністровської ГЕС.

Перевагу в такій ситуації отримують індиферентні до нерестового субстрату види або види з порційним нерестом. Так, в переважній більшості випадків в угрупованнях молоді домінувала верховодка (табл. 3.3.1). Подібна ситуація спостерігалась і в минулі роки [235].

Відкрита вершина водосховища забезпечує можливість виходу в річкову ділянку на нерест плідників літореофільної та псамореофільної екологічних груп, які складають основу рибного населення у водоймах Карпатського регіону. З річкової ділянки молодь скочується у водосховище на нагул. Як видно з результатів малькових обловів, цьоголітки типових літореофільних видів хоч і не в значній кількості, але зустрічаються не лише у верхній ділянці водосховища, а й в середній його частині (табл. 3.3.1).

Слід зазначити, що саме реофільна частина іхтіофауни України характеризується найбільшою кількістю раритетних видів.

Одним з найбільш дієвих шляхів з підвищення рибопродуктивності водойм Карпатського регіону при недостатньому рівні природного відтворення є здійснення штучного розмноження в умовах індустріальної аквакультури з подальшою реінтродукцією отриманої молоді у природні гідроекосистеми.

Вважаємо за доцільне роботи з реінтродукції розпочати з видів, які мають не лише високий природоохоронний статус, але і значну господарську цінність. До таких видів в іхтіофауні Карпатського регіону слід віднести представників літореофільного комплексу: стерлядь

прісноводну верхньодністровську популяцію, туводну форму вирезуба причорноморського та марену звичайну.

На основі проведених нами розрахунків екологічної ємності гідроекосистем регіону щодо зазначених видів, загальна щорічна потреба у рибопосадковому матеріалі складає 78 млн. екземплярів підрощеної молоді (табл. 3.3.2).

Таблиця 3.3.2

Пропоновані обсяги зариблення підрощеною молоддю, млн. екз./рік

	Дністровське в-ще	Дністер	Прут	Сірет	Всього
Стерлядь	0,31	0,04	-	-	0,35
Вирезуб	38,15	3,06	-	-	41,21
Марена зв.	-	29,41	6,96	0,08	36,47
Всього	38,46	32,51	6,96	0,08	78,01

Проте, технології штучного відтворення вказаних аборигенних видів на сьогодні не розроблені, а ті, що існують, вимагають вдосконалення для отримання рибопосадкового матеріалу із високими адаптивними властивостями для здійснення ефективної реінтродукції у природні водойми. Все це вимагає глибокого розуміння особливостей біології даних видів.

Марена звичайна *Barbus barbus* (Linnaeus, 1758) занесена до Червоної книги України як вразливий вид [2]. Незважаючи на це, вона широко розповсюджена в річках Карпатського регіону України (рис. 3.3.5).

В Сіреті марена звичайна розповсюджена від кордону з Румунією до с. Стара Жадова, де зустрічається спільно з мареною дунайсько-дністровською (*Barbus petenyi* Heckel, 1852) [87] або як її ще називають мареною румунською. У Дністрі *Barbus barbus* є звичайним видом у верхній частині басейну від Самбору і вниз за течією, спорадично заходить у Дністровське водосховище, досягаючи його середньої частини (рис.

3.3.5). Особливо чисельна на проміжку Дністра від с. Нижнів до м. Заліщики. Із основного русла заходить в притоки.

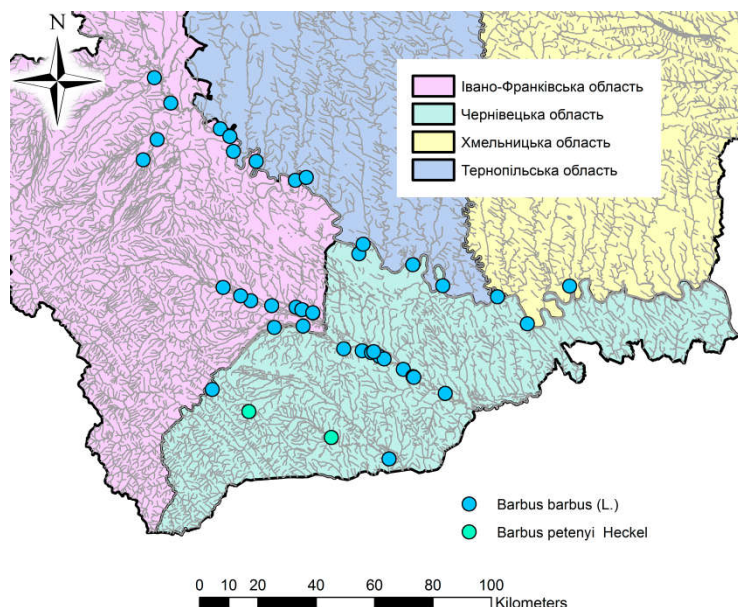


Рис. 3.3.5. Поширення марени звичайної *Barbus barbus* та марени румунської *Barbus petenyi* в річках західного регіону України

У наш час у р. Прут марена звичайна поширена від кордону з Молдовою до м. Коломия. Хоча раніше, як зазначалось Шнаревичем, даний вид зустрічався у верхів'ях Пруту в акваторії с. Ворохта [133]. В Черемоші марена зустрічається повсюдно від впадіння в Прут до с. Розтоки (рис. 3.3.5). Шнаревич відмічав найвищу точку знаходження даного виду в Черемоші на рівні Усть-Путили [133].

У басейні річки Прут склалися сприятливі нагульні умови для марени звичайної, про що свідчить позитивна аллометрія росту особин даного виду в зазначеній гідроекосистемі. Це видно зі значень коефіцієнта b рівняння, що описує залежність маси тіла від лінійних розмірів (рис. 3.3.6).

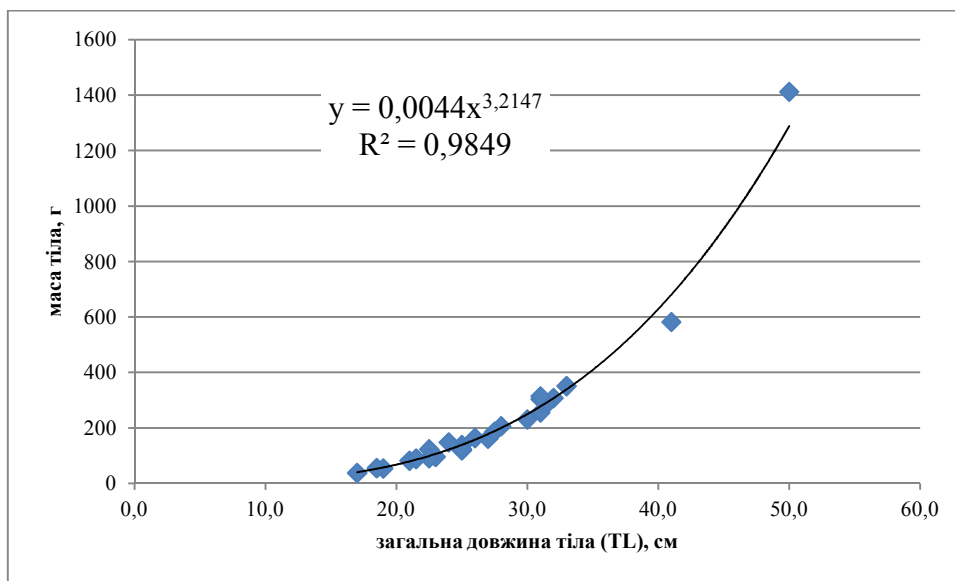


Рис. 3.3.6. Залежність маси тіла від загальної довжини у марени звичайної *Barbus barbus* з української частини басейну річки Прут

Як відомо, якщо коефіцієнт b рівний 3, це свідчить про ізометричний характер росту, тобто із збільшенням довжини тіла його пропорції практично не змінюються [352], якщо $b > 3$ – ріст позитивно алометричний. Варто зазначити, що у марени звичайної з української частини басейну Пруту значення коефіцієнта b (3,2147) більше, ніж у марени з водотоків Хорватії та Фландрії, де він дорівнює 3,089 та 3,095 відповідно [347; 352]. Це означає, що на одиничний приріст довжини марена з річки Прут набирає більшу масу.

Вирезуб причорноморський *Rutilus frisii* (Nordmann, 1840) занесений до Червоної книги України як зникаючий вид [2]. Ще на початку 20-го століття вирезуб, або як його ще називають вирозуб, був звичайним видом в басейнах Дністра, Південного Бугу, Дніпра та Сіверського Дінця. Однак зарегулювання стоку русел основних річок Північного Причорномор'я, яке активно проводилося в середині минулого століття, призвело до стрімкого зменшення популяцій напівпрохідних і прохідних видів риби, у тому числі

вирезуба. У системі верхній Дністер-Дністровське водосховище вирезуб сформував найбільш потужну в Україні туводну популяцію завдяки збігу двох обставин. З одного боку, відкрита вершина Дністровського водосховища дозволяє статевозрілим особинам безперешкодно виходити на нерест у верхній Дністер, де зосереджені основні нерестовища, з іншого – саме водосховище є місцем зимівлі і нагулу молоді і дорослих особин. Відповідно, поширений вирезуб по всьому Дністровському водосховищу та вздовж основного русла Дністра та в крупних його притоках (рис. 3.3.7).

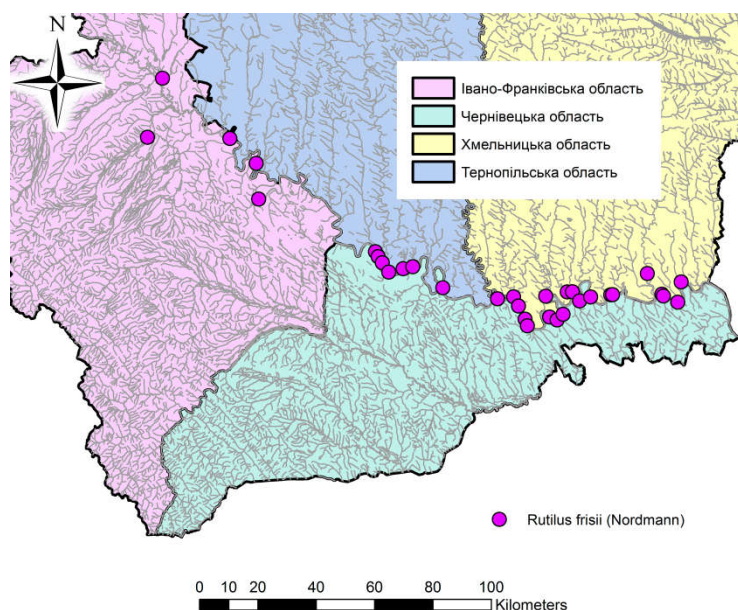


Рис. 3.3.7. Поширення вирезуба причорноморського *Rutilus frisii* в басейні верхнього та середнього Дністра

Як вже було зазначено вище, в системі верхній Дністер-Дністровське водосховище сформувалися сприятливі умови для нагулу і природного відтворення туводної форми вирезуба, що забезпечило збільшення його чисельності. Так, з 2002 до першої половини 2018 року частка вирезуба в уловах усередненої сітки контрольного порядку зросла майже на третину – з 1,9 до 2,5% від загальної кількості присутніх в уловах риб [118].

Істотно збільшилися розміри присутніх у водосховищі особин (рис. 3.3.9.А). Якщо в 2002 році більше 85% особин вирезуба обловлювались

дрібновічковими сітками, то, починаючи з 2009 року і до тепер, близько 90% обловлюється сітками із середнім і великим вічком (рис. 3.3.8.Б).

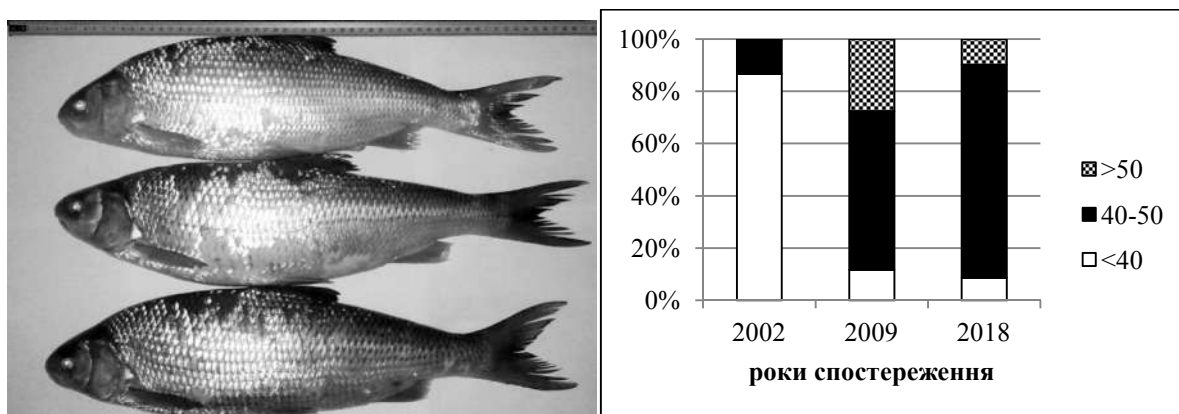


Рис. 3.3.8. Вирезуб *Rutilus frisii* – зовнішній вигляд виду, Дністровське водосховище (А); частка обловлюваного в Дністровському водосховищі вирозуба в залежності від кроку вічка сіток (Б)

Зарегулювання стоку в умовах передгірської частини течії Дністра викликало адаптації екстер'єру вирезуба до нових умов. Зокрема, змінилася кількість кісткових елементів – розгалужених променів у спинному і анальному плавцях, лусок в бічній лінії. Характер змін пластичних ознак пов'язаний з погіршенням гідродинамічних і локомоторних властивостей тіла внаслідок зменшення швидкості течії: збільшення відносного показника найбільшої висоти тіла, вкорочення постдорсальної відстані і відносної довжини хвостового стебла [118]. Як було нами показано раніше, зарегулювання стоку в умовах передгірської частини течії Дністра викликало подібні адаптивні зміни в екстер'єрі плітки та ляща [108; 117]. Такі зміни у вирезуба можуть свідчити про зниження його міграційної активності в зв'язку з освоєнням нових нерестовищ безпосередньо в межах самого водосховища.

Збільшення відносної висоти тіла в умовах зарегулювання забезпечує високий показник приросту маси на одиницю приросту довжини. Вирезуб з Дністровського водосховища характеризується позитивною аллометриєю росту (рис. 3.3.9).

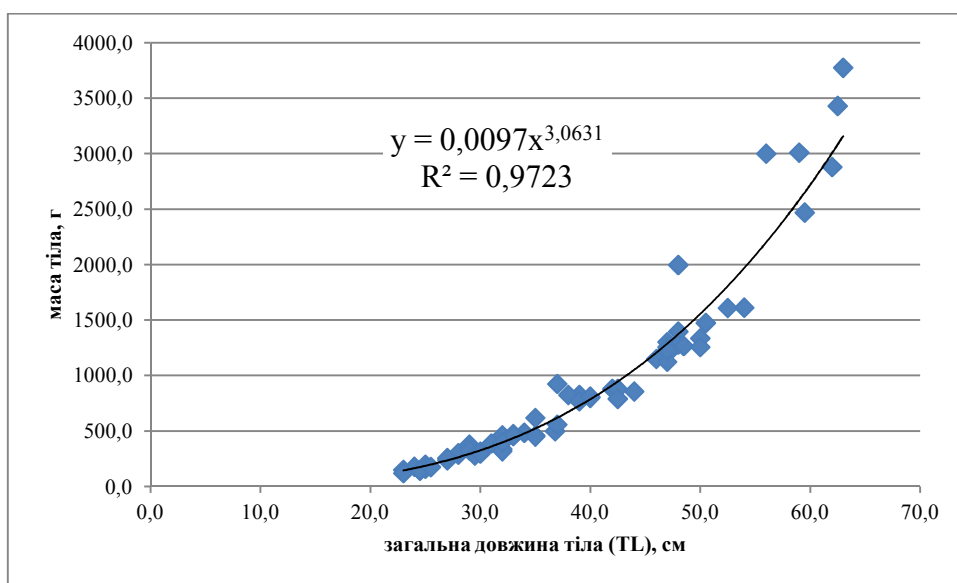


Рис. 3.3.9. Залежність маси тіла від загальної довжини у *Rutilus frisii* з Дністровського водосховища

Слід зазначити, що у близько спорідненого виду – каспійського кутума *Rutilus kutum* (Kamensky, 1901) коефіцієнти a і b мають значення 0,0179 та 2,9077 [282], що відповідає фактично ізометричній моделі росту. Це, очевидно, пов'язано з високою руховою активністю кутума, який є типовим прохідним видом. Дійсно, якщо кутум при загальних довжинах тіла 37 см та 51,5 см має масу 400 г і 1250 г [118], то вирезуб з Дністровського водосховища при подібних загальних довжинах тіла має масу 925 г і 1610 г відповідно.

Введення вирезуба в аквакультуру дозволить не лише забезпечити поповнення природних популяцій отриманим в неволі рибопосадковим матеріалом, але й отримати новий споживчий продукт. Адже за умов

розробки ефективних технологій зі штучного відтворення даного виду, він має всі шанси комерціалізуватись. Цьому сприяють високі гастрономічні якості м'яса. Окрім смакових характеристик, м'ясо вирезуба має високу харчову цінність. Так, в жирнокислотному профілі м'язів вирезуба міститься більше 45% мононенасичених та близько 25% поліненасичених жирних кислот (табл. 3.3.3).

Таблиця 3.3.3.

Жирнокислотний профіль м'язів та ікри вирезуба з Дністровського водосховища

	Відносний вміст ЖК, %	
	ікра	м'язи
не ідентифікована	3,42	-
Міристинова	1,23	1,79
Пентадеканова	0,40	0,47
Ізопальмітинова	0,43	0,28
Пальмітинова	21,27	19,21
Маргарінова	0,76	0,66
Ізостеаринова	0,55	0,35
Стеаринова	3,76	3,66
Арахінова	0,27	0,51
Бегенова	0,52	1,16
Лігноцеринова	0,55	0,38
Міристолеїнова	0,21	0,21
Пальмітолеїнова	11,42	14,80
Гептадеценнова	0,47	0,60
Олеїнова	30,54	27,17
Гондова	3,15	2,41
Ерукова	-	0,87
Нервонова	0,97	0,99
α -Ліноленова	1,16	1,12
Ейкозапентаснова	3,45	4,64
Докозатрієнова	0,19	0,37
Докозагексаснова	8,66	6,44
Лінолева	1,18	1,85
Ейкозадієнова	0,17	0,27
Арахідонова	3,44	8,30
Докозадієнова	0,07	0,33
Докозатетраснова	0,12	0,04
Тетрадекадієнова	0,04	0,06
Гексадекадієнова	1,62	1,05
Всього насичених ЖК	33,14	28,46
Всього мононенасичених ЖК	46,76	47,07
Всього поліненасичених ЖК	20,10	24,47
Всього ω-3 / ω-6	13,45 / 4,98	12,56 / 10,79

Висновки до розділу 3

Іхтіофауна Українських Карпат та Передкарпаття представлена 78 видами з 19 родин, які об'єднані в 11 рядів, що складає 57% видового різноманіття рибоподібних та риб, які зустрічаються у прісних водах України. При цьому, частка раритетного компоненту в іхтіофауні досліджуваного регіону складає більше 50% від загальної кількості присутніх тут видів. Попри велике видове різноманіття іхтіокомплексів водойм регіону, їх фактична рибопродуктивність вкрай низька і не досягає 30% потенційної рибопродуктивності за рівнем розвитку природної кормової бази. Низький рівень рибних запасів на фоні відповідної нормативним значенням якості води та високого розвитку трофічної бази свідчить про порушення процесів природного відтворення в популяціях переважної більшості видів риб. Одним з найбільш дієвих шляхів вирішення ситуації, що склалася, є здійснення штучного розмноження в умовах індустріальної аквакультури з подальшою реінтродукцією отриманої молоді у природні гідроекосистеми.

Розрахована екологічна ємність водойм регіону щодо обсягів зариблення – об'єм рибопосадкового матеріалу раритетних видів для басейнів Дністра, Пруту та Сірету складає 350 тис. екземплярів підрощеної молоді стерляді, 41 млн. – вирезуба та 36,5 млн. екземплярів марени на рік.

РОЗДІЛ. 4. РИБНИЦЬКО-ТЕХНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА РЕЦИРКУЛЯЦІЙНОЇ СИСТЕМИ В ЧЕРНІВЕЦЬКОМУ НАЦІОНАЛЬНОМУ УНІВЕРСИТЕТІ

Суворі екологічні обмеження, спрямовані на мінімізацію забруднень від аквакультурних комплексів, послужили стимулом в країнах Західної Європи до швидкого технологічного розвитку установок замкнутого водопостачання (УЗВ) або так званих рециркуляційних систем.

Суть технології вирощування риби в установках замкнутого водопостачання полягає в тому, що вода із рибоводних ємностей після процесу механічної та біологічної очистки повторно подається в ті ж ємності [12; 344]. Використання таких систем має цілу низку технологічних переваг (рис. 4.1). Зокрема, завдяки повторному використанню істотно скорочуються витрати води. Так, після першого заповнення щоденна підміна води складає всього від 3 до 10 % від загального об'єму установки.

Для водопостачання УЗВ після відповідної підготовки можуть використовуватись як підземні води, так і водопровідна вода. Це дозволяє розміщувати такі системи далеко від великих водойм, безпосередньо в населених пунктах та, навіть, у маловодних регіонах [168]. З іншого боку, за рахунок зменшення об'єму скидних вод мінімізується негативний вплив на навколишнє середовище [314]. Також, при вирощуванні риб у замкнутих системах практично виключається імовірність їх втечі і проникнення в природні гідроекосистеми, що особливо актуально при культивуванні об'єктів з інших біогеографічних регіонів. На відміну від УЗВ, ставові рибні господарства часто стають осередками біологічних інвазій, з яких поширюються адвентивні види [236; 277; 325].

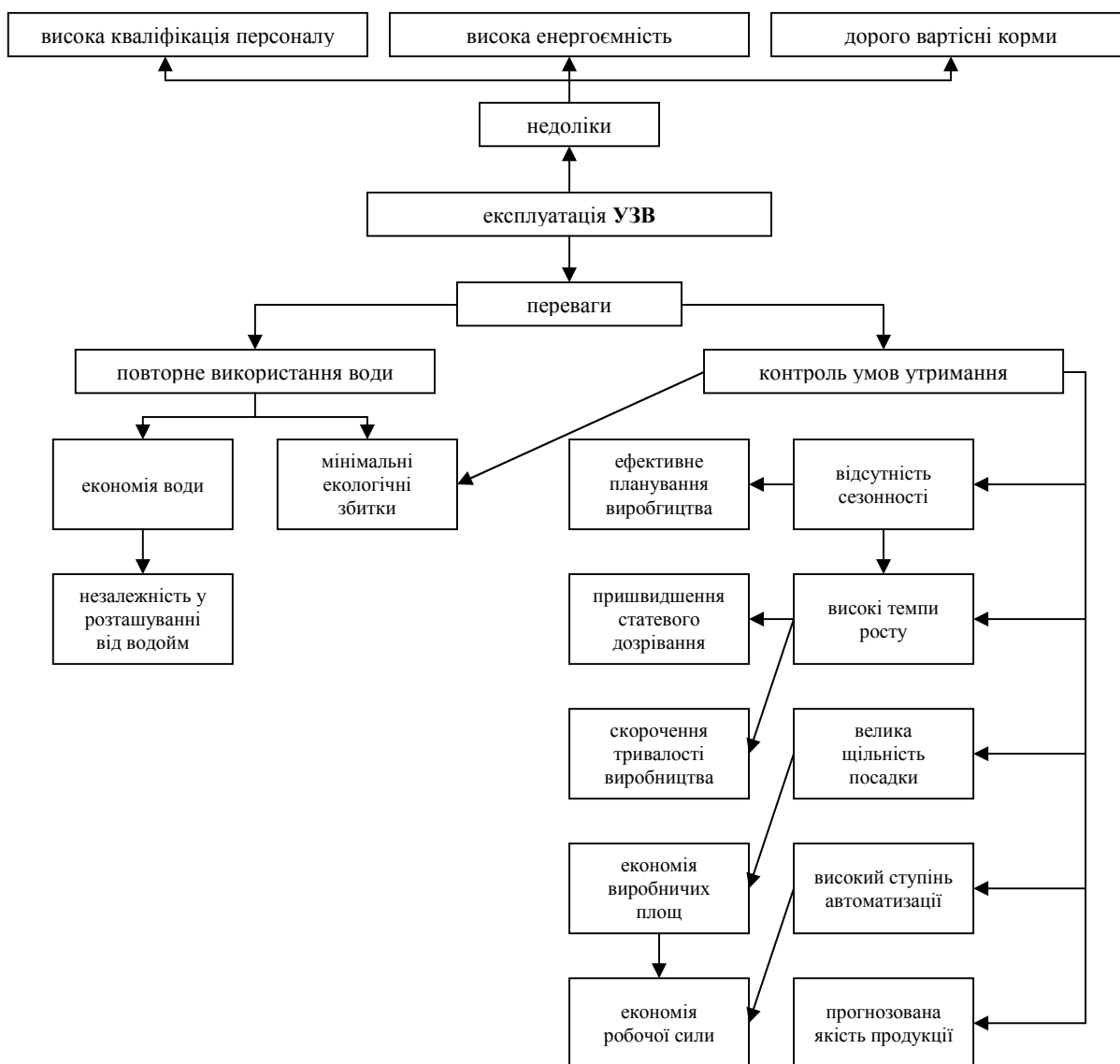


Рис. 4.1. Причинно-наслідкові зв'язки переваг та недоліків використання установок замкнутого водопостачання в аквакультурі

Однією з основних переваг вирощування риби в УЗВ є можливість повного контролю над технологічним процесом, що дозволяє підібрати оптимальні для конкретного виду умови утримання. Це дає змогу забезпечити значно вищі показники темпу росту, ніж у природі чи ставах. На ростові процеси також позитивно впливає відсутність сезонної зміни температури середовища – риба росте протягом цілого року. Швидкий

темپ росту забезпечує, з одного боку, скорочення терміну отримання товарної продукції, а з іншого – зменшує вік досягнення статевої зрілості.

Можливість знехтувати сезонним фактором відкриває широкі можливості для ефективного планування строків проведення нересту та термінів отримання рибної продукції.

Створення оптимальних умов утримання дозволяє істотно підвищити щільність посадки риби порівняно із ставами. Перевага може досягати 1000 та, навіть, більше разів. Це, відповідно, дозволяє скоротити виробничі площі та заощадити на витратах на робочу силу [50].

Незважаючи на всі переваги, рибоводні УЗВ є дороговартісними, енергоємними, вимагають високої кваліфікації обслуговуючого персоналу та використання дорогих гранульованих кормів. Проте, порівняно висока вартість обладнання компенсується зменшенням витрат на оренду виробничих площ, скороченням тривалості виробничого циклу, високою ефективністю виробництва. Енергетичні затрати можуть частково покриватись за рахунок альтернативних джерел енергії, зокрема сонячних батарей і колекторів, теплових насосів. Висока оплата праці кваліфікованих працівників в умовах автоматизації виробництва компенсується невеликою кількістю персоналу.

Перспективним є використання рециркуляційних рибоводних установок з природоохоронною метою задля забезпечення утримання в неволі ремонтно-маточного поголів'я та отримання в результаті штучного відтворення та підрощення до життєздатного стану молоді аборигенних видів риб з метою подальшої реінтродукції у природні водойми.

Рециркуляційна система, створена в Чернівецькому національному університеті імені Юрія Федьковича, призначена для проведення експериментальних досліджень із вдосконалення існуючих та розробки нових технологій розведення аборигенних видів риб.

Спроектована УЗВ розміщена у підвальному приміщенні 3-го корпусу ЧНУ з висотою стін 2,4 м.

Стіни і підлога облицьовані керамічною плиткою, що дозволяє утримувати їх у належному санітарному стані. Приміщення обладнані приточно-витяжною вентиляцією з рекуператором повітря. Це забезпечує підтримання стабільних значень температури та вологості повітря в приміщеннях. Фотоперіод контролюється за допомогою часового реле.

Навчально-наукова УЗВ ЧНУ спроектована за наступною схемою (рис. 4.2), в якій можна виділити 3 основних блоки: рибоводний блок, блок очистки води та водопідготовки та машинний блок, які поєднані між собою трубопроводами.

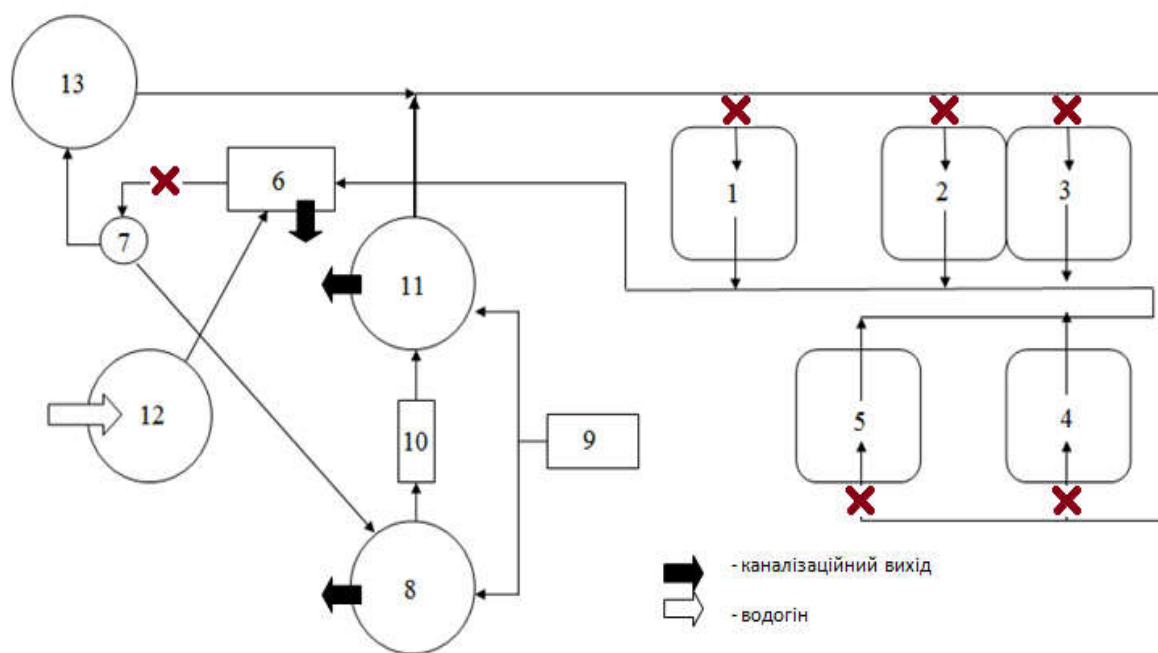


Рис. 4.2. Загальна схема рибоводної навчально-наукової УЗВ ЧНУ

Примітка: 1 – 5 – рибоводні ємності; 6 – механічний фільтр; 7 – насос; 8 – біологічний фільтр; 9 – компресор; 10 – ультрафіолетовий фільтр; 11 – ємність для насичення; 12 – компенсаційна ємність; 13 – оксигенатор; **×** – вентилі для регуляції водообміну.

Технічні характеристики основних функціональних частин підібрані з розрахунку забезпечення енергоощадливості та достатнього запасу потужності основних апаратів (табл. 4.1). Заповнення системи водою здійснюється з міського водогону. Після відстоювання протягом 48 год. водопровідна вода за своїм хімічним складом відповідає вимогам щодо якості вод, призначених для риборозведення [69; 132]. Після першого запуску подальше підживлення здійснюється відстояною водою з компенсаційної ємності, яка подається у механічний фільтр. Це забезпечує ефективне перемішування свіжої води з тією, яка вже циркулює в системі і не призводить до стрімких коливань значень фізико-хімічних параметрів води.

Таблиця 4.1

Технічна характеристика основних функціональних частин УЗВ

Найменування	Характеристика
Рибоводні ємності	Квадратні басейни з заокругленими кутами, матеріал – скловолокно, об'єм – 2 м ³ , кількістю – 5 шт.
Механічний фільтр	3 відділи: відстійник; власне фільтраційний із зануреним наповнювачем; водонакопичувач. Загальний об'єм – 0,42 м ³
Водяний насос	Coasts: 2840 об./хв ; 1,5 кВт; 220В
Компресор	Pedrollo: 0,6 кВт; 220В
Біологічний фільтр	Робочий об'єм – 0,815 м ³ Тип наповнювача: регенеруючий плаваючим
Бактерицидний фільтр	УФ-лампа: 50 Вт
Ємність для насичення киснем	Тип: барботажний. Об'єм – 0,7
Компенсаційна ємність	Об'єм – 1,0 м ³
Оксигенатор безнапірний	Об'єм – 0,54 м ³
Трубопровід (Ø 100 мм)	Матеріал – капрон; загальна довжина 48,0 м
Трубопровід (Ø 50 мм)	Матеріал – капрон; загальна довжина 5,5 м
Трубопровід (Ø 25 мм)	Матеріал – капрон; загальна довжина 4,0 м

Особливо небезпечним при додаванні значних об'ємів свіжої води є підвищення рН, внаслідок чого у воді може накопичуватись молекулярний аміак.

Відомо, що токсичність молекулярного аміаку набагато вища, ніж амонію. Так, якщо критичним для риб є вміст нітрогену аміаку на рівні 0,0125 мг/л, то концентрація загального амонійного азоту за певних значень рН повинна бути менше 1 мг/л для холодоводних риб та, навіть, до 3,0 мг/л для тепловодних [344]. При 20°C та $\text{pH} < 7$ високо токсичний аміак практично відсутній, однак при підвищенні значень рН його концентрація швидко зростає, і при $\text{pH} \approx 8$ його частка в складі загального амонійного нітрогену перевищує 5% [12]. Оскільки амоній-іон є кінцевим метаболітом риб, основна його кількість утворюється і накопичується саме у рибоводних ємностях. Відповідно, подача свіжої води безпосередньо в басейни з рибою може нести значні ризики.

Освітлення води, яка самотоком надходить із рибоводних басейнів у механічний фільтр, відбувається за рахунок седиментації крутних завислих часток у відстійнику фільтра та подальшої фільтрації води через занурений пластиковий наповнювач. У механічному фільтрі передбачено найнижчий за рівнем розташування кран, через який можна спустити всю воду з фільтра та всіх басейнів. Біофільтр та ємність для насичення води киснем мають автономні водоспуски (рис. 4.3).

Із механічного фільтра вода насосом перекачується у біологічний фільтр, де проходять процеси амоніфікації розчинених органічних сполук та нітрифікації. Даний процес проходить у два етапи: спочатку аеробні бактерії роду *Nitrosomonas* окислюють амоній до нітриту, а в подальшому нітрити доокислюються до нітратів переважно бактеріями роду *Nitrobacter* [257; 344]. Слід враховувати, що нітритокислюючі бактерії є більш чутливими до стресорних факторів, ніж амонійокислюючі бактерії. Це за

певних умов призводить до підвищення концентрації нітритів при незмінній концентрації амонійного азоту у воді [152]. Така ситуація може провокувати розвиток нітритної метгемоглобінемії у риб, і якщо вчасно не вжити відповідних заходів – масовою їх загибеллю.

У спроектованій установці використовується біологічний фільтр колонного типу висотою 2000 мм та робочим об'ємом 0,815 м³. В якості субстрату для біоплівки використовується рухомий (плаваючий) капроновий наповнювач з питомою площею 450 м²/м³.

Оскільки нітрифікація – аеробний процес, біофільтр обладнано системою подачі повітря, що забезпечує необхідний для нормального перебігу процесів нітрифікації рівень насичення води розчинним киснем. Окрім того, перемішування наповнювача внаслідок барботажу повітря забезпечує його регенерацію, тобто стара відмерла біоплівка злущується, звільняючи тим самим місце для наростання нової. Залишки старої біоплівки видаляють під час промивки біофільтра, яку проводять 1 раз на місяць, при цьому зливається приблизно третина об'єму колони через нижній спускний кран.

Беручи до уваги, що відсоток заповнення біофільтру наповнювачем становить 60%, то об'єм субстрату для нітрифікуючих бактерій у біофільтрі – 0,489 м³. Відповідно, загальна корисна поверхня, заселена бактеріями, складає 220 м². Питома окислювальна здатність біофільтрів складає 0,8-1,0 г (N-NH₄⁺)×м⁻²×доба⁻¹ при температурах 15–20°C відповідно [257]. Зважаючи на це, біофільтр в спроектованій рибоводній установці може забезпечити окислення до 220 г амонійного нітрогену на добу.

На практиці, завдяки роботі біофільтра в жодному із вузлів системи концентрація розчинних форм нітрогену не перевищує нормативні значення (табл. 4.2). Слід відмітити, що немає достовірної відмінності між

азотними показниками в різних частинах установки. Це пов'язано з інтенсивним водообміном, який забезпечується роботою водяного насоса.

Також потрібно враховувати те, що, на відміну від класичних схем, у спроектованій УЗВ надлишкова вода, яка подається у біофільтр, не скидається в каналізацію, а по відповідному трубопроводу назад потрапляє у механічний фільтр (рис. 4.3), який також частково бере участь у нітрифікації.

Таблиця 4.2

Концентрація розчинних у воді форм нітрогену в різних частина УЗВ

	Рибоводні, басейни	Механічний фільтр	Біологічний фільтр	Нормативи [344]
NH_4^+ , мгN/л	0,15±0,010	0,15±0,015	0,14±0,020	< 1,5
NO_2^- , мгN/л	0,41±0,027	0,42±0,043	0,41±0,068	< 1
NO_3^- , мгN/л	1,75±0,039	1,57±0,076	1,35±0,050	< 300

У біоплівці біофільтра можуть накопичуватись не лише автотрофні нітрифікуючі бактерії, але й гетеротрофні, серед яких можуть бути і патогенні види мікроорганізмів [152]. Для знешкодження мікрофлори, яка виноситься потоком з біофільтру, вода проходить через бактерицидний фільтр, представлений ультрафіолетовою лампою (рис. 4.3; табл. 4.1), розміщеною в трубі з поперечним перерізом 100 мм. Завдяки роботі бактерицидного фільтра кількість завислих в товщі води мікроорганізмів зменшується втричі (рис. 4.4.).

Після бактерицидного фільтра вода потрапляє в ємність для насичення киснем, в яка має форму колони висотою 2 м. Нагнітання повітря у ємність здійснюється компресором через розпилювачі, розташовані в нижній частині.

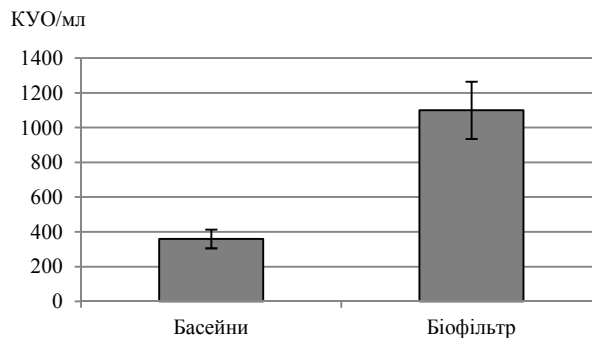


Рис. 4.4. Загальне мікробне число води з УЗВ після опромінення УФ бактерицидною лампою

Таким чином, компресор забезпечує аерацію води як в ємності для насичення, так і в біофільтрі, при цьому рівень насичення води киснем у рибоводних басейнах не опускається нижче 80%, а в біофільтрі – нижче 70% (рис. 4.5). Такий рівень дозволяє утримувати до 40 кг риби на 1 м³ води.

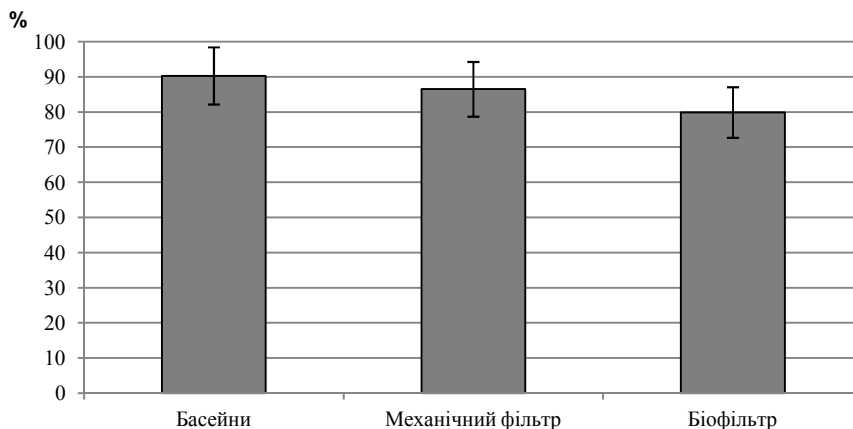


Рис. 4.5. Рівень насичення води розчиненим киснем у різних частинах УЗВ ЧНУ

При необхідності збільшення щільності посадки є можливість додаткового підключення безнапірного оксигенатора, у якому вода насичується чистим киснем (рис. 4.3). Як із ємності для насичення води

киснем, так і з безнапірного оксигенатора вода самотоком поступає у рибоводні басейни.

У спроектованій УЗВ риба утримується в 5 басейнах із скловолокна об'ємом по 2 м³ кожен (рис. 4.3). Максимальна глибина басейнів становить 0,5 м, плаща водного дзеркала – 4м². Басейни мають квадратну із заокругленими кутами форму, що з одного боку дозволяє ефективно, на відміну від круглих басейнів, використовувати площу виробничого приміщення, з іншого боку, заокруглені кути, на відміну від прямих, запобігають формуванню застійних зон [12].

Випуск води і регулювання її рівня в кожному з басейнів здійснюється за допомогою телескопічної запірно-переливної трубки, яка розташовується не безпосередньо в басейні, а збоку [257; 344]. Верхній рівень даної трубки знаходиться нижче бортів басейну, що запобігає переливу води через краї та втечі риби. При вирощуванні личинок сітку водовипуску закривають "ліхтарем" з млинарського газу на жорсткому каркасі. Тканину періодично (не рідше одного разу на добу) очищають від бруду, що накопичується. Рівень дна басейнів знаходиться вище рівня водного дзеркала в механічному фільтрі, що дозволяє за потреби повністю спускати воду з любого окремого басейну, а наявність запірно-переливної трубки дозволяє утримувати як завгодно малий рівень води у басейні.

Описана рибогосподарська установка замкнутого водопостачання була створена в процесі виконання робіт із штучного відтворення стерляді з верхньодністровської популяції. Відповідно було проведено розрахунок можливих обсягів утримання різновікових груп стерляді в спроектованій УЗВ.

Основними чинниками, які визначають максимальний обсяг утримання риби в рециркуляційних системах, є розмірні характеристики (об'єм та/або площа) рибоводних ємностей, параметри біофільтра та його

здатність окислювати амоній і нітрити, а також можливість підтримувати в системі достатній рівень насичення води киснем. Для осетрових критичний рівень насичення води киснем складає 26–32% [246]. Оскільки проблема оксигенації води легко вирішується підключенням додаткового обладнання, подальші розрахунки щодо обсягів вирощування проводили із врахуванням параметрів біофільтра та рибоводних басейнів.

Відомо, що відносний обсяг виділень кінцевих метаболітів азотного обміну на одиницю маси тіла у личинок та мальків значно більший порівняно з дорослою рибою [340]. Це дозволяє по мірі росту риби збільшувати щільність посадки за показниками маси. Інтенсивність виділення розчинного нітрогену залежно від загальної маси риби та від маси окремих особин можна розраховувати за формулою [45]:

$$R_{N_{розч}} = 3,2 \times M \times m^{-0,15} \times e^{0,0811(T-27)} \quad (4.1)$$

де:

M – загальна маса риби, т

m – індивідуальна маса риби, г

T – температура води, °C

Враховуючи те, що біофільтр спроектованої УЗВ може забезпечити нітрифікацію 0,220 кг амоній іону за добу, здійснивши відповідні перетворення рівняння (4.1), можна розрахувати загальну масу риби (M) відповідної розмірної категорії (m), яка екскретує таку масу амонію за добу, яку може утилізуватись у біофільтрі за відповідний проміжок часу ($R_{N_{розч}} = 0,220 \text{ кг} \times \text{доба}^{-1}$).

З іншого боку, щільність посадки осетрових розраховують не на об'єм води, а на площу дна рибоводних ємностей [19]. Це пов'язано з тим, що стерлядь, які і всі інші осетрові є типовими бентофагами, а тому

намагаються триматися біля дна. Наявність на їх тілі гострих жучок призводить до того, що риби травмуються, розштовхуючи одна одну під час поїдання корму.

Розрахунки максимальної загальної маси риби, яка може бути розміщена в створеній УЗВ, за параметрами біофільтра та рибоводних ємностей показали, що при вирощуванні личинок до маси 3 г основним лімітуючим фактором є площа басейнів, а вже при вирощуванні крупніших особин – визначальною є ефективність біофільтра (рис. 4.6).

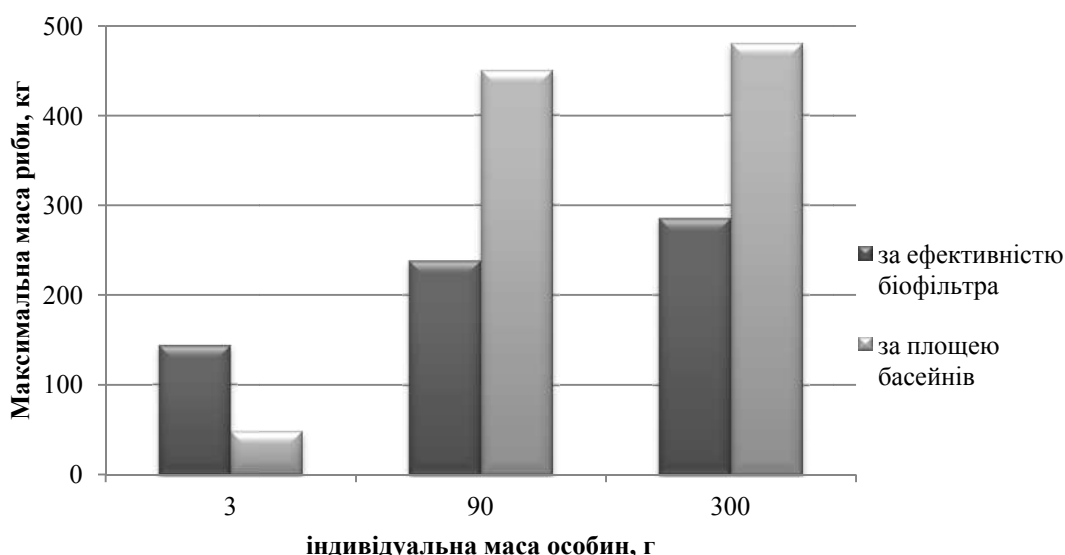


Рис. 4.6. Розрахункова максимальна загальна іхтіомаса стерляді, яка може утримуватись в УЗВ ЧНУ у відповідності до параметрів обладнання

Наявні в УЗВ площі басейнів дозволяють згідно існуючих нормативів [246] розмістити на підрощування 100 тис. одnodенних передличинок стерляді масою 9 мг. Така їх кількість при 65% запліднюваності та 70% прокльовуванні може бути отримана з ікри від 10–11 самок з середньою масою тіла 1,7 кг. Варто зауважити, що біофільтр в

даній конкретній установці може утилізувати таку кількість амоній-іону, яка екскретується більше, ніж 6,6 млн. передличинок.

Нормативні показники виживання стерляді в УЗВ складають 70-95%. у залежності від стадії розвитку. Незважаючи на частковий природний відхід на кожному етапі, частину особин необхідно вилучати (табл. 4.3).

Таблиця 4.3

Кількість особин стерляді, які можна утримувати в УЗВ ЧНУ

Маса особин	Вживаність, %	Можливо утримувати	Можливо отримати, особин	Необхідно вилучити, особин
9 мг		10000	100000	
22 мг	70	30000	70000	40000
3 г	70	16000	21000	5000
90 г	70	2647	11200	8553
300 г	95	951	2515	1564
550 г	95	568	903	335
700 г	95	462	540	78
1000 г	95	341	439	98
1500 г	95	242	324	82
Всього				55710

Висновок до розділу 4.

При початковій посадці в басейни рибоводної установки, створеної в Чернівецькому національному університеті, 100 тис. одноденних передличинок з середньою масою 9 мг для вирощування до маси 1500 г протягом трьох років, необхідно вилучити на різних етапах розвитку близько 55,7 тис. особин, які можуть бути переведені в інші рибницькі господарства або випущені в природні гідроекосистеми.

РОЗДІЛ. 5. ХАРАКТЕРИСТИКА БІОТЕХНОЛОГІЇ ШТУЧНОГО ВІДТВОРЕННЯ СТЕРЛЯДІ ВЕРХНЬОДНІСТРОВСЬКОЇ ПОПУЛЯЦІЇ

5.1. Поширення та умови існування стерляді в системі Дністер-Дністровське водосховище

Стерлядь прісноводна – *Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758 – відноситься до категорії цінних промислових риб, характеризується високими харчовими і смаковими якостями. Однак, її запаси в водоймах України на сьогоднішній день істотно підірвані. Вид як зникаючий охороняється Червоною книгою України, Міжнародним союзом охорони природи, Бернською конвенцією, а також Конвенцією про міжнародну торгівлю видами дикої фауни і флори, що перебувають під загрозою зникнення [2; 163; 165; 201].

Стерлядь до зарегулювання була розповсюджена в Дністрі повсюдно від Дністровського лиману до передгірських ділянок басейну [109]. На основі наявної в літературних джерелах інформації, усних повідомлень рибалок, звітів органів рибоохорони та власних спостережень було створено реєстр знахідок стерляді в басейні Дністра в межах сучасного західного регіону України. За допомогою on-line сервісу Google Map, виходячи із зазначених у відповідних джерелах топографічних назв, було отримано географічні координати знахідок (табл. 5.1.1).

У наш час реєструються нечасті повідомлення від місцевих жителів про поодинокі випадки вилову стерляді. Переважна їх кількість вказує, на те, що ядро популяції локалізоване в Дністрі на проміжку від м. Галич до устя Збруча. Проте стерлядь також спорадично зустрічається вздовж всього Дністровського водосховища аж до с. Непоротово.

У минулому чисельність стерляді в Дністрі була досить високою, що забезпечувало можливість промислового освоєння її запасів у різний час і в різних ділянках басейну. Так, за даними Новіцького в кінці XIX століття стерлядь мала велике значення в промислі риби в Дністрі в межах Галичини. Більшість особин мали довжину до 78 см і масу до 1,5 кг, хоча реєструвалися окремі особини близько 90 см і масою 3-6 кг [301]. У першій половині XX століття на ділянці Дністра від гирла Збруча до гирла Калюса найбільш інтенсивний лов стерляді припадав на період весняного та літнього водопілля. Маса товарних риб досягала 8 кг [95]. З 1946 по 1950 р. загальний обсяг вилучення стерляді в Дністрі на відрізок від Хотина до Дубосар коливалися від кількох кілограм до 3,5 т на рік [13].

Таблиця 5.1.1

Реєстр знахідок стерляді у Дністровському водосховищі та прилеглий до нього частині басейну Дністра [109]

Місцевість, населений пункт	Водойма	Географічні координати ¹		Джерело інформації
		широта	довгота	
Самбір	Дністер	49.505937	23.220467	Staff 1950
Тершаків	Дністер	49.512978	23.759944	Балабай 1952
Розділ	Дністер	49.450048	24.038329	Dzieduszycki 1896
Устя р. Стрий	Дністер	49.398239	49.398239	Шнарович 1968
Галич	Дністер	49.127477	24.728996	Шнарович 1968
Галич	Дністер	49.127477	24.728996	Nowicki 1889
Єзупіль	Дністер	49.047409	24.806403	Nowicki 1889
Маріямпіль	Дністер	49.024137	24.848571	Nowicki 1889
Нижнів	Дністер	48.960722	25.099611	Dzieduszycki 1896
Язлівець (раніше Яблунівка)	Стрипа	48.951433	25.420985	Шнарович 1968
Дулиби	Стрипа	48.926475	25.418022	Гоч 2008
Берем'яни	Дністер	48.872155	25.433054	усне повідомлення 2013
Лисівці	Серет	48.850164	25.823469	Шнарович 1968
Гуків	Збруч	48.844030	26.222534	Шнарович 1968
Устечко	Дністер	48.768862	25.596415	Шнарович 1968
Устечко	Дністер	48.768862	25.596415	Dzieduszycki 1896
Касперівці (нижній б'єф)	Серет	48.667945	25.852223	Гоч 2008
Добрівляни	Дністер	48.667442	25.761431	Шнарович 1968
Печорна	Дністер	48.665684	25.674434	Тернопільрибоохорона, грудень 2013
Цибулівка	Смотрич	48.642838	26.587383	Шнарович 1968
Залішки	Дністер	48.633533	25.732112	Dzieduszycki 1896

продовження таблиці 5.1.1

Заліщики	Дністер	48.633533	25.732112	Ярошенко и др. 1951
Устя р. Серет	Дністер	48.620655	25.856617	Шнарович 1968
Василів	Дністер	48.605333	25.847370	Nowicki 1889
Василів	Дністер	48.605333	25.847370	Шнарович 1968
Василів	Дністер	48.605333	25.847370	усне повідомлення, 2013
Зозулинці	Дністер	48.590348	25.932871	Вайнштейн 1961
Брідок	Дністер	48.607502	25.955124	Худый и др. 2013
Самушин	Дністер	48.606026	26.064945	Худый и др. 2013
Онута	Дністер	48.576039	26.052504	Шнарович 1959
Мельниця-Подільська	Дністер	48.595230	26.144859	Шнарович 1968
Гордівці	Дністер	48.512750	26.333423	усне повідомлення 2010
Пригородок (Kozaczowka)	Дністер	48.535789	26.41806	Nowicki 1889
Устя р. Збруч	Дністер	48.539455	26.443035	Шнарович 1968
Атаки	Дністер	48.547524	26.478910	Шнарович 1959
Хотин	Дністер	48.521721	26.500368	Ярошенко и др. 1951
Хотин	Дн. в-ще ²	48.521721	26.500368	Скільський и др. 2007
Анадоли	Дн. в-ще	48.480563	26.537185	Khudyi, Khuda 2014
Анадоли	Дн. в-ще	48.480563	26.537185	усне повідомлення, липень 2014
Берново	Дн. в-ще	48.506723	26.630569	усне повідомлення, липень 2014
ділянка Сокіл-Устя	Дністер	48.544114	26.617270	Сластененко 1929
Ленківці	Дністер	48.537068	26.735862	Шнарович 1968
В. Слобідка (раніше В. Мікша)	Дністер	48.573200	26.723700	Сластененко 1929
Устя р. Боговиця	Дністер	48.585692	26.739321	Сластененко 1929
Устя р. Студениця	Дністер	48.576834	26.920913	Шнарович 1968
Дністрівка	Дн. в-ще	48.573236	26.926694	усне повідомлення 2013
Стара Ушиця	Дністер	48.559909	27.117664	Шнарович 1968
Непоротово	Дн. в-ще	48.609140	27.294268	усне повідомлення, 2013
Ломачинці	Дністер	48.603858	27.341141	Шнарович 1968

¹ Дн. в-ще – Дністровське водосховище

На відміну від інших видів осетрових, зарегулювання основного русла Дністра в Дубосарах та Новодністровську не повинна була викликати скорочення чисельності верхньодністровської популяції стерляді. Це пояснюється тим, що зазначений вид в даній частині Дністра представлений туводною формою. Відкрита вершина водосховища забезпечує можливість виходу плідників в ріку на нерест, а створення водосховища повинно було сформувати більш сприятливі умови для нагулу та зимівлі. Так, у перші п'ять років після створення в Дубосарському водосховищі спостерігалось збільшення відносної

чисельності стерляді в уловах приблизно на 50% [16]. Це пояснюється тим, що у водосховище на нагул скочувалась молодь з передгірських ділянок Дністра. Порівняльний аналіз доступних даних з розмірно-вікової структури уловів стерляді [16; 133] засвідчив, що темпи росту стерляді в Дубосарському водосховищі перевищували такі в прилеглий до нього вище за течією річковій ділянці (рис. 5.1.1).

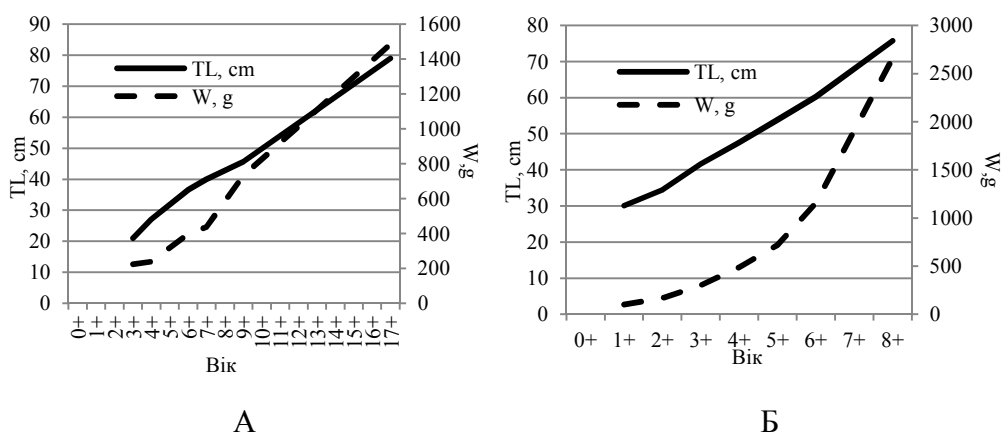


Рис. 5.1.1. Зміна загальної довжини (TL) та маси тіла (W) стерляді:

А – Дністер; Б – Дубосарське водосховище

Дністровська стерлядь має доволі широкий спектр кормових об'єктів, тому легко знаходить корм на різних донних субстратах. Так, у Дністрі до зарегулювання основу кормової бази стерляді становили личинки тентіпідід, сімулід, одноденок, волохокрильців і амфіподи [133]. Очевидно, що ці ж організми і в наш час складають основу кормової бази стерляді у Верхньому Дністрі. Після першої черги зарегулювання і створення Дубосарського водосховища в кормових грудках зросла частка олігохет [16]. Цікаво, що в кишечниках стерляді не виявлені молюски [135]. Відповідно, збільшення чисельності стерляді в результаті проведення масових зариблень отриманою в аквакультурі молоддю не призведе до посилення трофічної конкуренції з іншим червонокнижним

видом – вирезубом причорноморським, який є типовим моллюскофагом, та, популяція якого успішно існує у Верхньому Дністрі [237].

Очевидно, що основною причиною зменшення чисельності верхньодністровської популяції стерляді стало не зарегулювання стоку, а інший чинник.

Формування Дністровського водосховища збіглося в часі з техногенною катастрофою, що сталася в вересні 1983 р. у результаті прориву дамби відстійника Стебніковського хімкомбінату. Високомінералізовані відходи через річки Тисмениця та Бистриця потрапили в Дністер. Внаслідок цього на ділянці від гирла Бистриці до греблі в Новодністровську протяжністю понад 500 км було знищено практично все рибне населення. Довгий час вважалося, що популяція верхньодністровської стерляді знищена катастрофою назавжди. Однак, відновлення іхтіофауни Дністровського водосховища та прилеглої до нього ділянки річки йшло за рахунок басейну Верхнього Дністра та придаткової системи [91]. Відновилося і популяція стерляді. Проведені багаторічні іхтіологічні дослідження дозволяють стверджувати, що одна з природних туводних популяцій стерляді в Україні збереглася в системі верхній Дністер-Дністровське водосховище [92].

Цінність верхньодністровської популяції стерляді підвищується тим, що у даній водній системі ніколи не проводилася інтродукція осетрових з використанням вирощеного на рибзаводах чужорідного іхтіологічного матеріалу. Це дозволило зберегти генетичну чистоту аборигенної популяції. Так, за результатами порівняльного аналізу з використанням мікросателітних ДНК-маркерів, а саме алелів – Afu-68, AfuB-68, Spl-163, Spl-101, Spl-106, Spl-173 [193], було показано, що верхньодністровська популяція стерляді генетично відрізняється від популяцій із сусідніх басейнових систем – Дніпра та Дунаю (рис. 5.1.2).

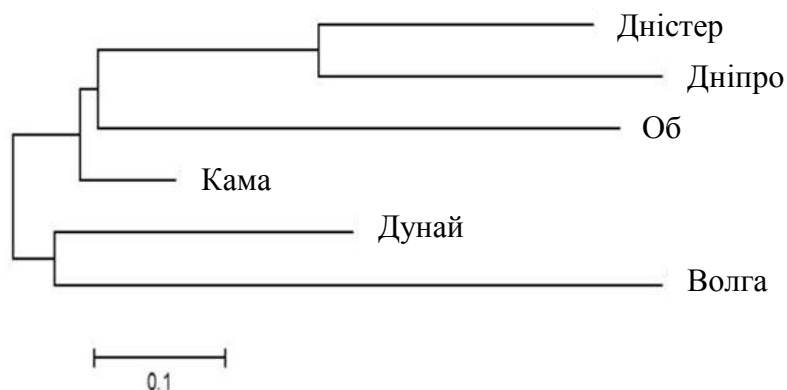


Рис. 5.1.2. Дендрограма генетичних відстаней D_a між популяціями стерляді з різних річкових басейнів [193]

Переважає більшість ремонтно-маточних стад стерляді на осетрових заводах колишнього Радянського Союзу формувалась із представників волзької популяції. Враховуючи велику генетичну відстань між дністровською та волзькою популяціями (рис. 5.1.2) недопустимо проводити зариблення рибо посадковим матеріалом стерляді невідомого походження. З огляду на унікальність Верхньодністровської популяції стерляді доцільно розробити і прийняти заходи по її штучному відтворенню, що дозволить відновити чисельність даного виду в Дністрі.

Терміновість проведення зазначених заходів по відношенню до дністровської туводних популяції стерляді пов'язана з цілим рядом антропогенних і природних чинників, які можуть призвести до різкого зниження її чисельності. Серед найбільш потужних антропогенних чинників – браконьєрство, яке проводиться як для задоволення харчових потреб, так і з метою незаконного переміщення плідників в орендовані рибогосподарські ставки. Відсутність професійної підготовки до роботи з осетровими у фермерів-рибоводів [234] часто призводить до загибелі вилучених з природи плідників або до втрати ними фертильності в умовах ставкових господарств.

Серед найбільш небезпечних природних факторів, які негативно можуть вплинути на чисельність верхньодністровської популяції стерляді, слід зазначити стрімке поширення у Дністровському водосховищі еустронгілідоза серед окуневих риб [25]. Відомо, що збудники даного паразитарного захворювання можуть також вражати й осетрових риб [65; 35].

Таким чином, одна з природних туводних популяцій стерляді в Україні збереглася в системі Верхній Дністер-Дністровське водосховище. Цьому сприяло те, що в водосховищі сформувалися сприятливі нагульні умови для молоді та плідників, а з іншого боку – відкрита вершина водосховища забезпечує безперешкодну міграцію плідників стерляді до нерестовищ, розташованих у річковій ділянці. Попри сприятливі умови чисельність даної популяції залишається невисокою. Одним із шляхів виправлення, ситуації, що склалася, є запровадження заходів із штучного відтворення з наступною реінтродукцією отриманої молоді в природне середовище. Це, у свою чергу, вимагає адаптації існуючих технологій до біологічних особливостей представників даної популяції. Введення в аквакультуру дністровської стерляді, крім важливого природоохоронного значення, є перспективним у зв'язку з її високими споживчими якостями.

5.2. Біотехнологія штучного відтворення дністровської стерляді в індустріальних умовах

З метою формування ремонтно-маточного стада в прилеглій до вершини Дністровського водосховища ділянці річки було виловлено плідників стерляді (дозвіл Міністерства екології та природних ресурсів України № 2012/19 від 24.12.2012 р). Виловлені особини були поміщені в

басейни рибоводної рециркуляційної системи форелево-осетрового племінного господарства «Ішхан».

При прогріванні води в господарстві до температури близько $+15^{\circ}\text{C}$ після попередньої гормональної стимуляції від однієї з самок і самця прижиттєво були отримані статеві продукти. Інкубацію заплідненої ікри проводили в апаратах Вейса об'ємом 8л. Всі біотехнологічні роботи по штучному відтворенню стерляді були виконані відповідно до рекомендацій, розроблених в Інституті прісноводного рибництва імені Станіслава Саковича в Ольштині [246]. Ефективність запліднення ікри склала близько 50% [249].

Переведення личинок на зовнішнє живлення проводили з використанням науплій *Artemia* sp. як стартового корму [337]. З 8 доби після початку годівлі паралельно з живим давали штучний корм Perla Larvae (Skretting). Через наступні 8 діб личинкам давали виключно штучний корм. Період експериментального вирощування личинок стерляді тривав 26 діб від моменту викльову (рис. 5.2.1).



Рис. 5.2.1. Динаміка втрат личинок дністровської стерляді, отриманих від вилучених з природи плідників

Під час експерименту втрати личинок були невеликими, виживаність личинок за весь період склала близько 87 % від початкової кількості. Протягом періоду підрощування спостерігалось два піки втрат (рис. 5.2.1): перший – найбільш високий, причиною якого є зазвичай вади розвитку личинок, і другий дещо менший – внаслідок загибелі від голоду особин, які не змогли перейти на штучний корм [250]. Темп росту личинок був високий [249].

Як відомо, при вирощуванні личинки стерляді до малька з масою 1 г при оптимальних значеннях температури (+20 +22 °C) і раціональній годівлі середній приріст може коливатися в межах 5–30% на добу [27]. У нашому випадку середньодобовий приріст маси тіла личинок в першу декаду досяг 3,8 мг, що склало 20,5% від початкової маси (рис. 5.2.2).

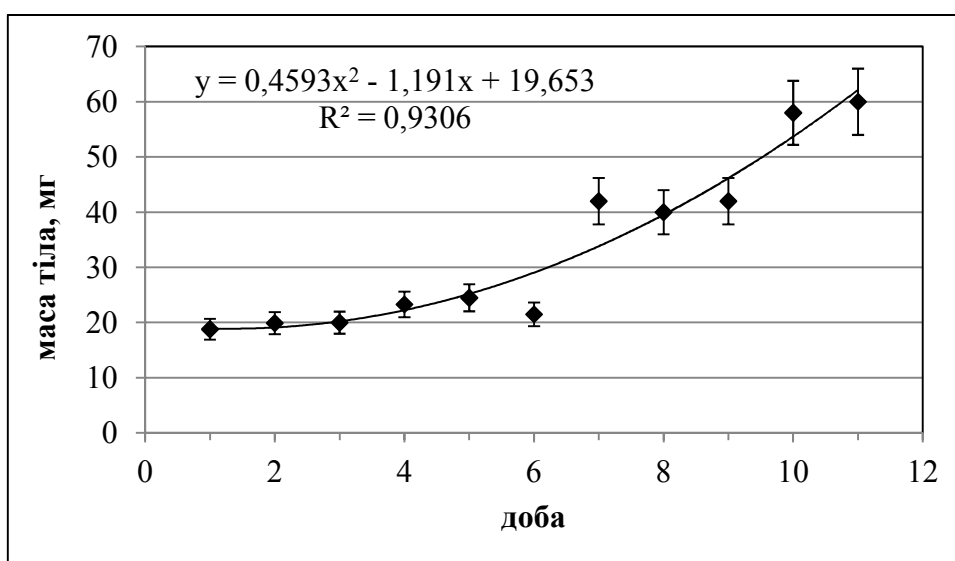


Рис. 5.2.2. Динаміка масонакопичення личинок дністровської стерляді в умовах рибоводної рециркуляційної системи

Загальна довжина тіла протягом цього ж періоду збільшилася від вихідної на 54,6% і досягла $23,2 \pm 0,42$ мм (рис. 5.2.3). Слід зазначити, що температура води, в якій підрощувалась личинка, була нижча за

оптимальну – +16 +17 °С, проте, не дивлячись на це, інтенсивність росту личинок була задовільною.

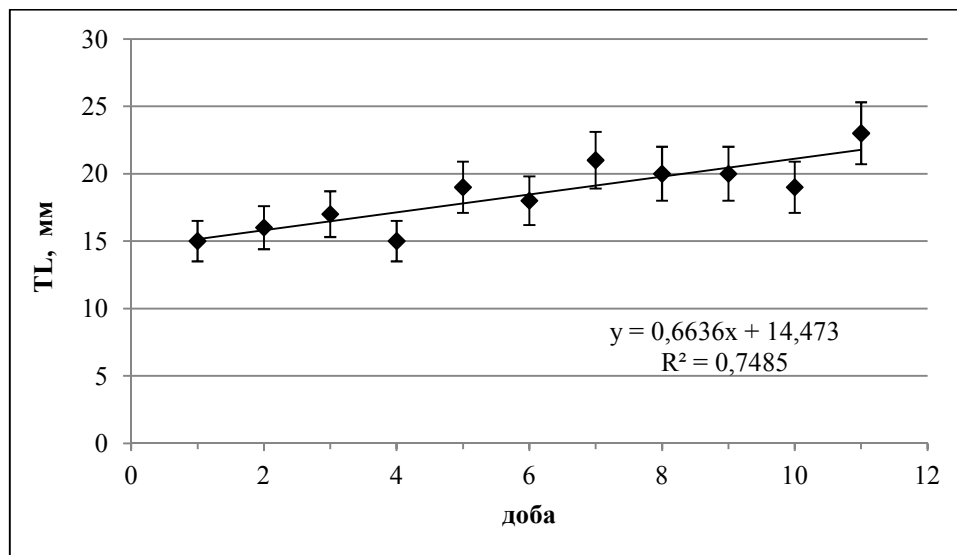


Рис. 5.2.3. Динаміка загальної довжини тіла (TL) личинок дністровської стерляді в умовах рибоводної рециркуляційної системи

Протягом всього періоду ендогенного живлення в тілі личинок більш, ніж в 2 рази знизився вміст білка і загальних ліпідів (рис. 5.2.4). Перехід личинок на екзогенне живлення спостерігався на 7–8 добу після вилуплення. Як вже було зазначено вище, в якості стартового корму використовували науплії артемії з подальшим додаванням гранульованих кормів Perla Larvae pro Activ від Skretting. Перехід личинок на зовнішнє живлення супроводжувався різким стрибком приросту маси, а також збільшенням показників вмісту основних груп нутрієнтів.

У віці 2 місяці середня маса цьоголіток склала $3,46 \pm 0,32$ г. У результаті сортування мальки були розділені на три розмірні групи: до першої групи увійшли 23% особин з середньою масою $1,28 \pm 0,15$ г, в другу – 45% із середньою масою $2,94 \pm 0,19$ г і в третю – 32% загальної

кількості особин з середньою масою тіла $5,83 \pm 0,37$ г. Мінімальна і максимальна маса тіла в загальній вибірці склала 1,05 і 8,55 г відповідно.

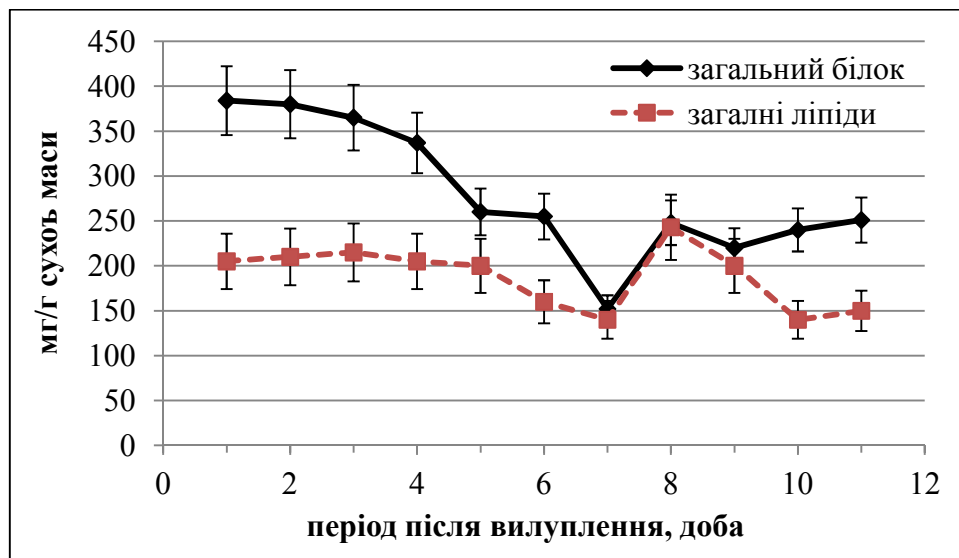


Рис. 5.2.4. Динаміка вмісту загального білку та загальних ліпідів у личинок дністровської стерляді в умовах рибоводної рециркуляційної системи

У цей період частина риби з рибного господарства була переведена в рециркуляційну рибоводну установку в ЧНУ. Рибопосадковий матеріал помістили в квадратні пластикові басейни об'ємом 2 м^3 при максимальній щільності посадки – до 200 екз./м^3 . Рибу годували гранульованим кормом Т-Т Nutra MP від Skretting. Температура води в рибоводних ємкостях становила $+19 \text{ } ^\circ\text{C}$ до $+22 \text{ } ^\circ\text{C}$. У віці 4 місяці середня маса цьоголіток склала 22,3 г при мінімальних і максимальних показниках 9 г і 42 г відповідно. У той же період середня маса цьоголіток дністровської стерляді, вирощених в умовах рибгоспу «Ішхан», склала 13,5 г, що скоріш за все обумовлено нижчими температурами води ($+16 \text{ } ^\circ\text{C}$ – $+17 \text{ } ^\circ\text{C}$). Як відомо, оптимальні температури для вирощування молоді переважної більшості осетрових риб знаходяться в межах $+22 \text{ } ^\circ\text{C}$ – $+26 \text{ } ^\circ\text{C}$ [123].

Годівля риб в умовах індустріальної аквакультури є важливим технологічним елементом. Якість комбікормів, їх склад, особливості годівлі суттєво впливають на біохімічні показники тканин і органів риб [130]. У зв'язку з цим було перевірено вплив комбікормів різних виробників на темп росту, а також біохімічні показники тканин цьоголіток дністровської стерляді, які вирощували в умовах УЗВ. Для цього були відібрані особини у віці 6 місяців з приблизно однаковою масою тіла. Їм згодовували корм Aller Aqua і Skretting в рівних кількостях.

Незважаючи на подібний нутрієнтний склад корми забезпечили різні темпи росту: так, відносний середньодобовий приріст маси особин при використанні корму Skretting склав 1,91%, що майже в два рази більше, ніж при використанні корму Aller Aqua – 0,97% (рис. 5.2.5).

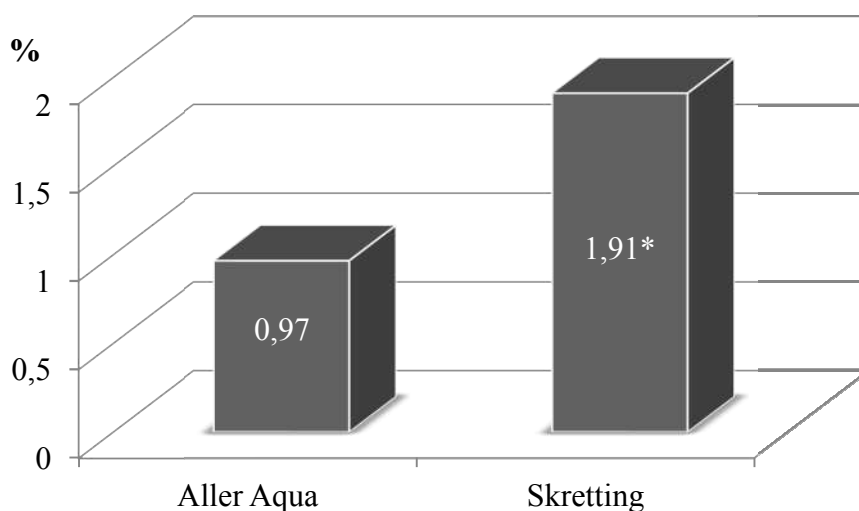


Рис. 5.2.5. Відносний середньодобовий приріст маси цьоголіток дністровської стерляді в умовах рибоводної рециркуляційної системи при використанні кормів Aller Aqua та Skretting

Відомо, що утримання стерляді в штучних умовах, годування її штучними кормами викликають в організмі цілий ряд змін в порівнянні з дикими особинами [53; 46]. Посилення ростових процесів забезпечується

інтенсивним синтезом протеїнів, особлива роль при цьому належить печінці. Печінка є основним органом, де синтезується велика кількість білків на експорт, зокрема білків плазми крові. Нашими дослідженнями показано більш високий вміст загальних протеїнів в печінці риб, вигодованих кормом Scretting. Проте в м'язах вміст загального білка при використанні обох досліджуваних кормів істотно не відрізнявся (рис. 5.2.6).

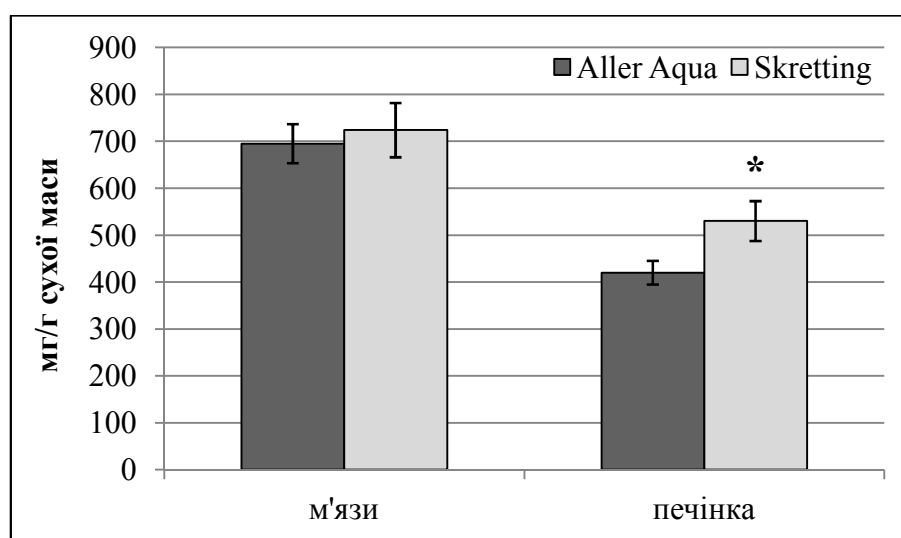


Рис. 5.2.6. Вміст загального білку в тілі цьоголіток дністровської стерляді в умовах рибоводної рециркуляційної системи при використанні кормів Aller Aqua та Skretting

** достовірна різниця при $p < 0,05$*

Ліпідний склад риб, вирощених на рибних господарствах, майже завжди відрізняється від ліпідного складу «диких» риб, значну роль в цьому відіграють інтенсивна годівля штучними кормами і зменшення рухливості риб в басейнах за рахунок обмеженого простору. Ці фактори можуть викликати збільшення жирності риб, в тому числі й осетрових, вирощених в індустріальних умовах, що підтверджується даними ряду авторів [202; 308]. Відомо, що вміст жиру в тілі «диких» та вирощених в

умовах аквакультури особин стерляді відрізняється [53]. Це пов'язано як з відмінностями кормового раціону, так і рухливістю риб. Переважно за рахунок жиру енергетичні потреби задовольняються у риб, які активно рухаються, тоді як у малорухливих риб в енергетичному обміні зростає роль білка, що сприяє накопиченню жиру в тілі [80]. Також відбувається перерозподіл співвідношення окремих фракцій ліпідів. Так, в особин, вирощених в штучних умовах, порівняно з дикими формами в складі ліпідів зростає частка триацилгліцеролів, натомість зменшується відсоток фосфоліпідів [1]. За вмістом ліпідів в м'язах стерлядь відноситься до жирних риб [7]. Вміст жиру в тілі залежно від умов вирощування коливається від 18 до більш ніж 40% сухої маси [53; 191; 261].

За результатами наших досліджень більшу кількість загальних ліпідів як у м'язах, так і в печінці накопичували особини, які отримували корм Skretting. В обох досліджуваних груп риб вміст загальних ліпідів в печінці перевищує їх вміст у м'язах (рис. 5.2.7).

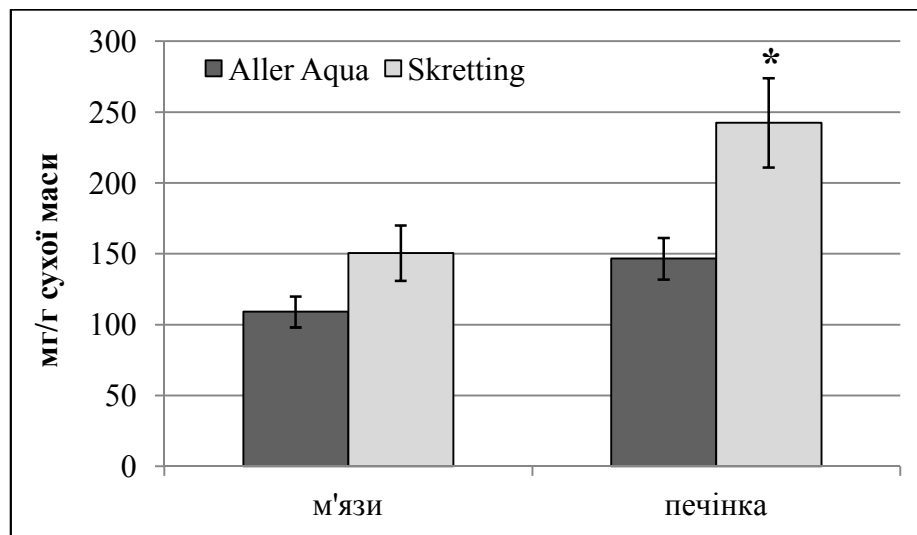


Рис. 5.2.7. Вміст загальних ліпідів в тілі цьоголіток дністровської стерляді в умовах рибоводної рециркуляційної системи при використанні кормів Aller Aqua та Skretting

* достовірна різниця при $p < 0,05$

Загалом можна підсумувати, що у цьоголіток стерляді з дністровської популяції, вирощених в УЗВ з використанням корму від Aller Aqua, вміст жиру нижчий, ніж у середньому в осетрів [7].

Одним з основних структурних компонентів клітинних мембран є холестерол. Ця сполука є попередником жовчних кислот, стероїдних гормонів і вітаміну D₃. Холестерол є найбільш поширеним стеролом в тканинах риб. Його вміст в органах і тканинах коливається в широких межах. Найбільше його в головному мозку, наднирках, середній вміст – в печінці, слизовій кишечника, найменший – у м'язах і сполучній тканині.

Центральна роль в обміні холестеролу належить печінці. Тут відбувається як синтез ендogenous холестеролу, так і перетворення екзогенного. Як відомо, при синтезі холестеролу *de novo* попередником є ацетил-СоА, С₂-одиниці якого беруть участь в утворенні як стероїдного ядра, так і хвоста холестеролу. Відповідно, надходження в організм екзогенних жирних кислот сприяє синтезу холестеролу внаслідок утворення ацетил-СоА під час процесу β-окиснення [32]. Одним із останніх інтермедіатів біосинтезу холестеролу є сквален. У риб, у тому числі осетрових, дана сполука окрім печінки виявлена в м'язах та вісцеральному жирі [251], що істотно підвищує харчову цінність рибних продуктів для людини. Синтез ендogenous холестеролу пригнічується екзогенним. Проте, варто враховувати, що швидкість біосинтезу стеринів, у тому числі холестеролу, в печінці риб значно нижча, ніж у ссавців, а тому потреба в ньому забезпечується в основному за рахунок надходження з кормом. Таким чином, рівень холестеролу в печінці в певній мірі залежить як від якості кормів, і так і від інтенсивності живлення риб.

Екзогенний холестерол, який надходить з кормом, у кишечника всмоктується у вигляді вільної форми. У слизовій кишечника такий холестерол етерифікується і у складі ліпопротеїнів низької щільності з

кров'ю надходить у печінку. У печінці ефіри холестеролу гідролізуються, після чого вільний холестерол транспортується кров'ю до периферійних структур, у тому числі у м'язи. При підвищенні рівня холестеролу в раціоні риби синтез його ефірів у тканинах посилюється. У зв'язку з цим у плідників стерляді, які отримують штучні корми, вміст ефірів холестеролу в тілі приблизно на 20% вищий, ніж в особин, вилучених з природи [1].

Результати наших досліджень показали дещо менший рівень накопичення холестеролу в м'язах і печінці цьоголіток стерляді при використанні корму Aller Aqua (рис. 5.2.8).

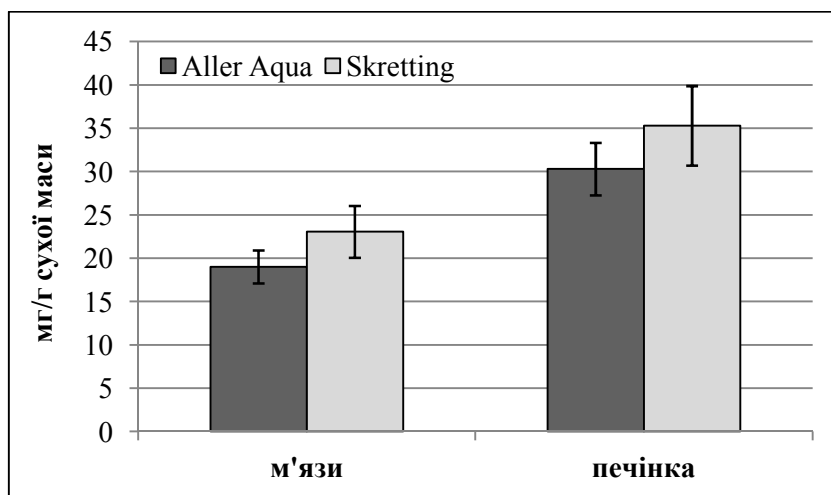


Рис. 5.2.8. Вміст загального холестеролу в м'язах та печінці цьоголіток дністровської стерляді в умовах рибоводної рециркуляційної системи при використанні кормів Aller Aqua та Skretting

Функціональні особливості ліпідів риби багато в чому визначаються їх жирнокислотним складом. Дослідження жирнокислотного складу м'язової тканини цьоголіток дністровської стерляді, вирощених в індустріальних умовах, показали наступні результати (табл. 5.2.1).

Таблиця 5.2.1

**Жирнокислотний склад ліпідів м'язів цьоголіток дністровської
стерляді, вирощеної в умовах УЗВ на різних кормах**

№	Название жирной кислоты		С, %	
			Aller Aqua	Skretting
1	Ундецилова	C11:0	0,30	0,03
2	Тридеканова	C13:0	-	0,02
3	Міристинова	C14:0	3,73	5,09
4	Ізоміристинова	Ci14:0	-	0,02
5	Пентадеканова	C15:0	0,28	0,33
6	Пальмітинова	C16:0	17,42	21,80
7	Ізопальмітинова	Ci16:0	0,14	0,07
8	Маргарінова	C17:0	0,57	0,83
9	Стеаринова	C18:0	2,16	1,96
10	Ізостеаринова	Ci18:0	0,24	0,37
11	Арахінова	C20:0	1,30	1,38
12	Генейкозанаова	C21:0	0,31	0,30
13	Бегенова	C22:0	0,31	0,29
Σ НЖК			22,73	32, 51
14	Лауролейнова	C12:1	0,06	0,08
15	Міристоолеїнова	C14:1	0,09	0,22
16	Пальмітоолеїнова	C16:1	5,87	9,30
17	Гептадеценова	C17:1	0,53	0,74
18	Олеїнова	C18:1	34,52	26,25
19	Гондова	C20:1	2,20	2,24
Σ МНЖК			43,27	38,82
20	Тетрадекадієнова	C14:2	-	0,05
21	Гексадекадієнова	C16:2 ω-6	-	0,15
22	Лінолева	C18:2 ω-6	12,31	10,99
23	Ліноленова	C18:3 ω-3	2,52	1,15
24	Ейкозатрієнова	C20:3 ω-6	0,19	0,10
25	Арахідонова	C20:4 ω-6	0,93	0,68
26	Ейкозапентаєнова	C20:5 ω-3	6,45	7,64
27	Докозатрієнова	C22:2 ω-6	0,20	0,24
28	Докозатрієнова	C22:3 ω-3	-	0,11
29	Докозагексаєнова	C22:6 ω-3	6,47	6,44
Σ ω-3			15,44	15,27
Σ ω-6			13,63	12,13
Σ ПНЖК			29,07	27,45

Найбільш повно спектр жирних кислот представлений у риб, які одержували корм фірми Skretting. У них у складі ліпідів м'язової тканини ідентифіковано 29 жирних кислот, з яких 33% від загальної маси жирних

кислот складають насичені, 39% – мононенасичені, 28% – поліненасичені жирні кислоти. Серед насичених зафіксовано наявність тринадцяти жирних кислот. Домінує пальмітинова кислота (21,8% від загальної маси всіх жирних кислот). Істотним є вміст міристинової, стеаринової та арахінової кислот (5,1%, 2,0% і 1,4% відповідно), частка всіх інших кислот – менше 1% [107]. Варто зазначити, що спектр насичених жирних кислот в м'язах досліджуваних риб починається з C11:0 (ундецилової) кислоти, в порівнянні з іншими авторами в ліпідах стерляді вона не зафіксована, а жирнокислотний ряд починається з C14:0 [256; 261]. Частка мононенасичених жирних кислот висока, в основному за рахунок олеїнової (26,3%) і пальмітоолеїнової кислот (9,3%).

Поліненасичені жирні кислоти в м'язах стерляді головним чином представлені ліолевою (11,0%), ейкозапентаєною (7,6%), і докозагексаєною (6,4%) кислотами. Ключову роль в процесах життєдіяльності прісноводних риб відіграють ліолева і арахідонова кислоти. Вміст останньої в м'язах досліджуваних риб досить низький (0,7%). Дефіцит ліолевої кислоти в раціоні прісноводних риб призводить до уповільнення росту і морфологічних змін шкіри. При цьому, в тканинах риб, так само як у ссавців, компенсаторно посилюється синтез ейкозатрієнової кислоти і використання її в синтезі тканинних ліпідів [107; 239].

На відміну від риб попередньої групи у цього літоку, які отримували корм Aller Aqua, в складі ліпідної фракції м'язової тканини не ідентифіковано 5 жирних кислот: дві насичені – тридеканова і ізоміристинова, а також три поліненасичені – тетрадекадієнова, гексадекадієнова і докозатрієнова жирні кислоти. Незважаючи на це, загальний вміст ненасичених жирних кислот у м'язах вище у риб, які отримували корм Aller Aqua.

5.3. Застосування препарату ДОН-1R в технології вирощування осетрових риб в умовах індустріальної аквакультури

Одним із напрямків вдосконалення біотехнології розведення осетрових риб є розробка та використання препаратів, що стимулюють ростові процеси та підвищують життєстійкість риб. Відомим є позитивний вплив на імунну систему риб, зокрема коропа, γ -кротонолактонвмісних препаратів [101; 102]. Одним із таких препаратів є ДОН-1R. ДОН-1R – комплексний препарат, в склад якого входять γ -кротонолактон і суміш органічних кислот та похідні коричної кислоти. Даний імуномодулятор успішно застосовується при вирощуванні коропових риб у відкритих водоймах ставкових господарств [100].

Нами була перевірена доцільність застосування препарату ДОН-1R у технології вирощування осетрових, – як на етапі отримання рибопосадкового матеріалу, так і при товарному вирощуванні. Паралельно була апробована можливість його використання в рибоводних системах замкнутого водопостачання. У ході дослідження препарат вводили в корм у дозі 150 мкл на 1 кг корму. Для дослідження були використанні як корми провідних європейських виробників Aller Aqua та Skretting, так і самостійно виготовлена кормова основа [115].

Були отримані позитивні результати при застосуванні препарату ДОН-1R як при годуванні гранульованим кормом Aller Aqua, так і Skretting (рис. 5.3.1).

Встановлено, що найвищий відносний середньодобовий приріст (2,15%) спостерігається при застосуванні поєднання Дон-1R з кормом Skretting. Зауважимо, що і в контрольній групі риб (без використання препарату) показники масонакопичення є майже удвічі вищими порівняно із застосуванням Aller Aqua. В той же час, обробка корму Aller Aqua препаратом Дон-1R дозволяє наблизити значення показників темпу росту в

цьоголіток стерляді до рівня, який забезпечуються споживанням корму Skretting.

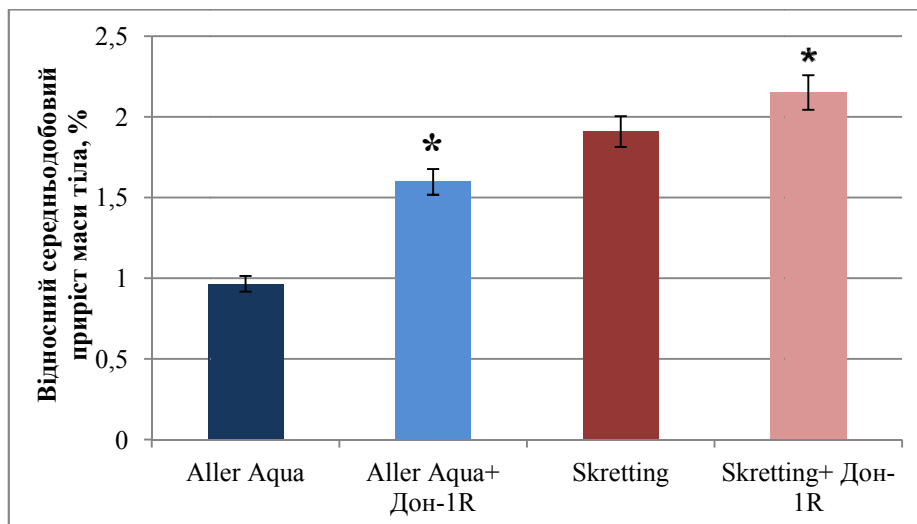


Рис. 5.3.1. Відносний середньодобовий приріст маси цьоголіток стерляді при застосуванні кормів Aller Aqua і Skretting, оброблених препаратом Дон-1R

* - достовірна різниця у порівнянні з відповідною контрольною групою без додавання ДОН-1R

Хоча додавання препарату до корму Skretting також прискорює темпи росту цьоголіток стерляді, проте, позитивний ефект у даному випадку не на стільки чітко виражений як при його сумісному використанні з Aller Aqua.

Саме в групі риб, що одержували корм Aller Aqua сумісно з препаратом Дон-1R спостерігали зростання вмісту білка в м'язовій тканині у порівнянні з контролем. Натомість, дослідження вмісту білка в печінці риб при застосування препарату Дон-1R в поєднанні з обома кормами показали відсутність різниці між значеннями цих показників у контролі та досліді (рис. 5.3.2).

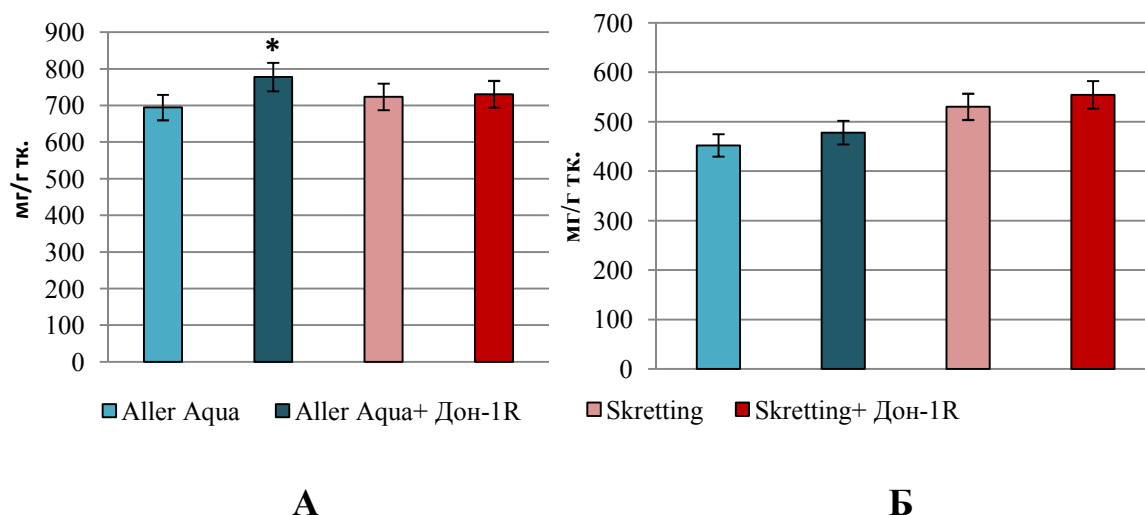


Рис. 5.3.2. Вміст загального білка в м'язах (А) та печінці (Б) стерляді за умов застосування препарату Дон-1R

* - достовірна різниця у порівнянні з відповідною контрольною групою без додавання ДОН-1R

Як відомо, біологічна цінність білка в живленні визначається співвідношенням амінокислот і їх доступністю для засвоєння організмом. Встановлено, що в м'язах стерляді обох досліджуваних груп найбільша масова частка припадає на сумарний вміст глутаміну і глутамінової кислоти (рис. 5.3.3), що є закономірним явищем з огляду на важливу їх роль в процесах переамінування амінокислот і не лише у м'язах, а й печінці [21].

Незамінні амінокислоти обов'язково повині надходити в організм тварин з кормом. Для риб виділяють ті ж самі незамінні амінокислоти, що і для сільськогосподарських тварин: валін, лейцин, ізолейцин, треонін, лізин, аргінін, метіонін, фенілаланін, гістидин, триптофан [80]. Недостатнє надходження в організм будь якої незамінної амінокислоти гальмує ріст, знижує засвоюваність їжі, негативно відображається на життєстійкості риб [362]. Потреба в незамінних амінокислотах, особливо таких, як лізин, аргінін, валін у риб надзвичайно висока. Загальний вміст незамінних амінокислот у м'язах стерляді при годуванні кормом Aller Aqua у

поєднанні з Дон-1R становить близько 48 %, Skretting + Дон-1R – 42% від загальної суми амінокислот.

Серед есенціальних амінокислот відзначено найвищий вміст лізину, лейцину та аргініну у м'язах при застосуванні обох кормів. Лімітуючими амінокислотами виявились валін та ізолейцин (рис. 5.3.3).

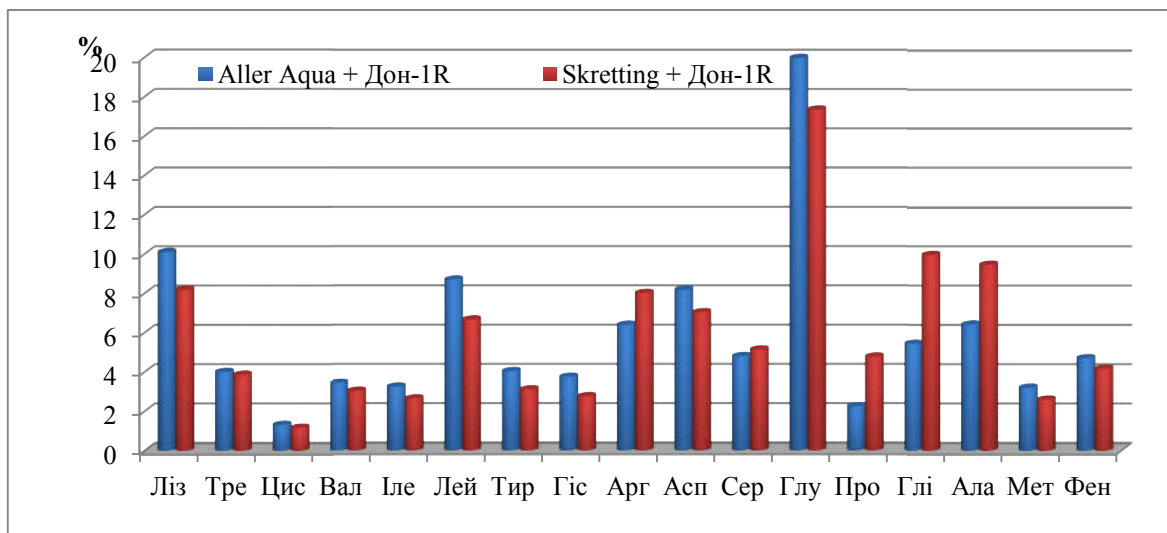


Рис. 5.3.3. Амінокислотний склад м'язів дністровської стерляді за умов застосування препарату Дон-1R

Ліпіди відіграють важливу роль у живленні риб, що зумовлено з одного боку, їх високою енергетичною цінністю, а з іншого – біологічною дією наявних у їхньому складі поліненасичених жирних кислот. Ліпіди при оптимальному їх вмісті в раціон риб виявляють стимулюючий вплив на засвоєння поживних речовин корму і заощаджуючий вплив на катаболізм білків та використання амінокислот в енергетичних процесах, що забезпечує підвищення ретенції білків в організмі риб [80].

Встановлено, що вміст загальних ліпідів у тканинах особин стерляді, які одержували Skretting є вищим у порівнянні з групою риб, вигодованих на Aller Aqua (у м'язах – на 72,5 %, печінці – на 60,5% відповідно) (рис. 5.3.4).

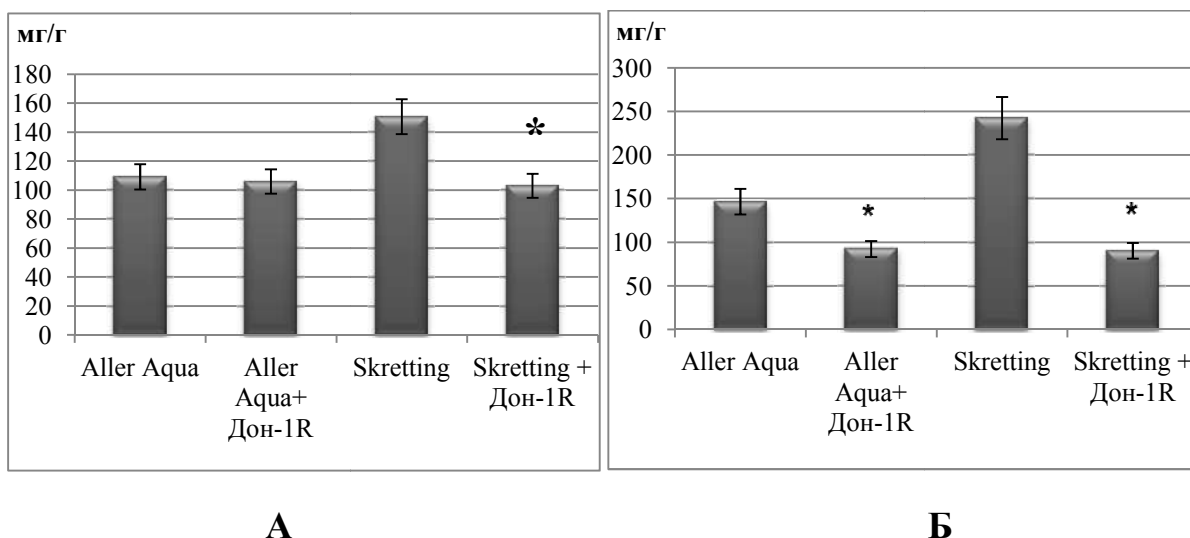


Рис. 5.3.4. Вміст загальних ліпідів у м'язах (А) та печінці (Б) стерляді за умов застосування препарату Дон-1R

* - достовірна різниця у порівнянні з відповідною контрольною групою без додавання ДОН-1R

Однак, застосування препарату Дон-1R призводить до зменшення вмісту ліпідів у м'язах та в печінці при застосуванні обох типів кормів.

Як і у випадку зі стерляддю, були отримані позитивні результати від перорального застосування препарату ДОН-1R при вигодовуванні однорічок сибірського осетра в системах замкнутого водопостачання.

Найбільш виразно стимулюючий ефект проявився при застосуванні препарату протягом перших 20-и діб. У цей період середній відносний приріст маси осетрів у експериментальній групі був на чверть вище, ніж у контрольній (рис. 5.3.5).

У окремих особин, які отримували препарат з кормом, інтенсивність приросту маси тіла становила близько 2% на добу, що в 1,5–2 рази вище, ніж у інтактних риб.

Впродовж наступних 20 діб риби, які отримували препарат почали сповільнювати темп нарощування маси тіла. У той же час, в особин контрольної групи значення даного показника залишалось на тому ж рівні,

що і в попередній період експерименту. В загальному інтенсивність росту досліджуваних особин при застосуванні препарату протягом всіх 40 днів експерименту не відрізнялася від контрольних значень.

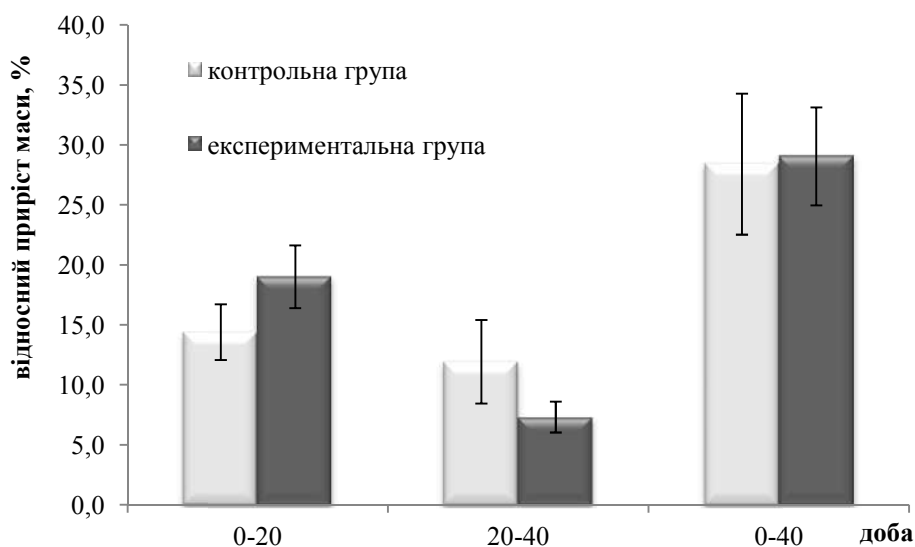


Рис. 5.3.5. Відносний приріст маси однорічних особин сибірського осетра при вигодовуванні гранульованим кормом, обробленим препаратом ДОН-1R

При застосуванні препаратів, що володіють стимулюючим ефектом, важливою є своєчасна оцінка функціонального стану організму риб. Провідну роль у підтриманні гомеостазу організму відіграє печінка. Відповідно, оцінка стану печінки при застосуванні різноманітних стимуляторів, антибіотиків та інших препаратів дозволяє вдосконалити технологію їх застосування та оцінити їх токсичний вплив.

Аналіз значень гематологічних маркерів функціонального стану печінки дозволяє проводити прижиттєву діагностику. Оскільки значна кількість таких маркерів є чутливою навіть до анестезії, яку при застосовують при відборі крові [188; 205; 206], доцільно проводити аналіз їх відносних, а не абсолютних значень.

Істотні відхилення значень біохімічних показників функціонального стану печінки сибірських осетрів при застосуванні ДОН-1R реєструвалися на фоні інтенсивного росту протягом першої частини експерименту (рис. 5.3.6).

В осетрових риб на відміну від коропових та лососевих біохімічні показники крові характеризуються значним переважанням активності аспартатамінотрансферази над активністю аланінамінотрансферази [10; 142; 148; 178; 244; 298]. Як відомо, зростання активності амінотрансфераз у сироватці крові порівняно з фоновими значеннями є прямим наслідком посиленого вивільнення цих ферментів у кров'яне русло в результаті пошкодження гепатоцитів. Нами встановлено збільшення активності АлАТ протягом усього терміну експерименту – в 1,7 та 1,3 рази порівняно з контролем на 20 та 40 добу відповідно. Варто відзначити, що понаднормове надходження в кров АлАТ необов'язково може бути пов'язаним порушенням цілісності гепатоцитів, а лише з порушенням проникливості їх мембран. Натомість підвищення активності АсАТ вважається маркером більш глибокого пошкодження печінкової тканини з руйнуванням не просто гепатоцитів, але й їх мітохондрій, внаслідок чого у кров надходить уся наявна у клітині кількість ферменту. Як і у випадку з АлАТ активність АсАТ була найвищою після перших 20-и діб застосування препарату – у цей період активність АсАТ була в 1,9 рази вищою, ніж у риб, які не отримували препарат. На кінцевому етапі дослідження активність даного ферменту знижувалась та наближалась до контрольних значень (рис. 5.3.6).

Про відсутність істотного порушення екскреторної функції печінки свідчить відсутність достовірних змін у концентрації загального білірубіну в плазмі крові риб протягом усього періоду отримання препарату (рис. 5.3.6.). Окрім підвищеного рівня білірубіну індикаторами порушень

екскреторної діяльності печінки є підвищення активностей лужної фосфатази та гамма-глутамілтранспептидази.

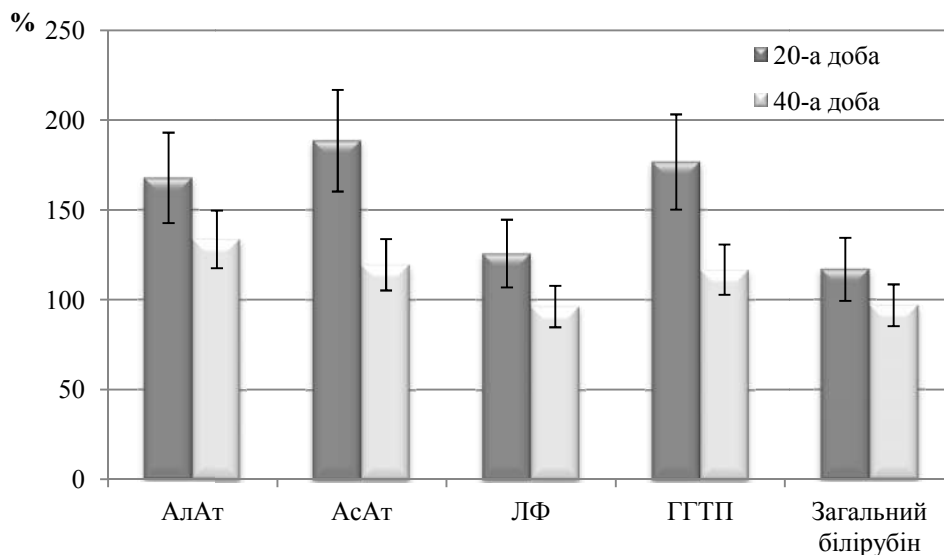


Рис. 5.3.6. Зміна значень гематологічних маркерів функціонального стану печінки сибірського осетра за дії ДОН-1R відносно контролю (контроль 100%)

У печінці лужна фосфатаза знаходиться у зв'язаному з плазматичними мембранами гепатоцитів стані. Особливо велика кількість ензиму в клітинах, які вистилають печінкові протоки та в мембранах клітин, які утворюють первинний жовчний канал. Така специфіка локалізації ензиму обумовлює значне зростання активності лужної фосфатази при всіх ураженнях печінки, які супроводжуються станом холестазу, що пов'язано з полегшеною солюбілізацією ензиму з клітинних мембран. Як було показано нашими дослідженнями при введенні однорічкам сибірського осетра з кормом препарату ДОН-1R активність лужної фосфатази зростала після перших 20-и діб експерименту в 1,3 рази, а в подальшому її значення поверталось до вихідного рівня (рис. 5.3.6.). Відомо, що активність лужної фосфатази зростає як при закупорці

загального жовчного протоку, так і в наслідок порушення відтоку жовчі при закупорці внутрішньо-печінкових шляхів чи їх запаленні, що є ранньою ознакою обтурації. Таким чином, якщо активність лужної фосфатази не змінюється, або зростає незначно, як у нашому дослідженні, холестаз є малоймовірним.

При діагностиці стану печінки визначення активності лужної фосфатази проводять у парі з визначенням активності гамма-глутамілтранспептидази. Встановлена наступна закономірність: активність обох ензимів – гамма-глутамілтранспептидази та лужної фосфатази зростає під час уражень печінки (стан холестазу); при запаленні кісткової тканини зростає активність лише лужної фосфатази, а активність ГГТП залишається на нормальному рівні. Оскільки в осетрових риб в скелеті переважає хрящова тканина, а кісткової дуже мало – підвищення активності гамма-глутамілтранспептидази в плазмі крові свідчить про запальні процеси в тканині печінки.

Гамма-глутамілтранспептидаза міститься переважно в плазматичній мембрані клітин, що мають високу секреторну або адсорбційну здатність, у тому числі в епітеліальних клітинах, які вистилають жовчні протоки та печінкові каналці. У цих клітинах гамма-глутамілтранспептидаза забезпечує процеси транспорту амінокислот через мембрани. Найбільш поширеною причиною підвищення активності гамма-глутамілтранспептидази у сироватці крові може бути патологія печінки або жовчних проток. Оскільки ензим зв'язаний з мембранами ендоплазматичного ретикулуму (мікросомальна фракція), він легко піддається індукції синтезу під дією чужорідних та токсичних сполук. Відомо, що помірне зростання активності γ -глутамілтранспептидази спостерігається за слабкої токсичної дії різних речовин на печінку. Введення сибірським осетрам препарату ДОН-1R з кормом викликає

підвищення активності лужної фосфатази протягом перших 20-и діб експерименту. Однак, у подальшому її значення поверталось до вихідного рівня (рис. 5.3.6.).

Гістологічна структура печінки риб характеризується відсутністю оформлених печінкових часточок (лобул) і ворітних триад, які є основним морфологічним одиницями структури печінки у ссавців. Хоча всі структурні елементи (клітини печінки – гепатоцити, кровоносні судини і жовчні протоки) присутні в печінці риб, вони по-іншому організовані в порівнянні з ссавцями. Жовчні протоки – ізольовані або згруповані по 2-3, часто супроводжуються артеріолами. Гепатоцити риб не організовані в тяжі, як у ссавців. Натомість, у риб гепатоцити, утворюючи паренхіму печінки, розташовуються дифузно або утворюють радіальні розгалужені канальці [320].

Гістологічні зміни в печінці риб проявляється при використанні незбалансованих кормів, а також при дії ксенобіотиків. Найбільш поширені зміни, що спостерігаються в печінці є: вакуолізація гепатоцитів, жирова дистрофія печінки, зміни в паренхімі печінки, пов'язані з некрозом.

Проведення гістологічного аналізу печінки виявив незначні гістопатологічні зміни в структурі тканини печінки. Зокрема, у риб, які отримували з кормом досліджуваний препарат, архітектоніка печінки частково порушена, гепатоцити розташовані більш хаотично, радіальний характер розташування печінкових канальців та синусоїдів не виражений (рис. 5.3.7.).

Як у контрольних, так і в дослідних особин, були виявлені ознаки жирової дистрофії. На мікрофотографіях видно, що у гепатоцитів з ознаками порушення ліпідного обміну ядра відтиснуті крупними ліпідними включеннями до периферії (рис. 5.3.8).

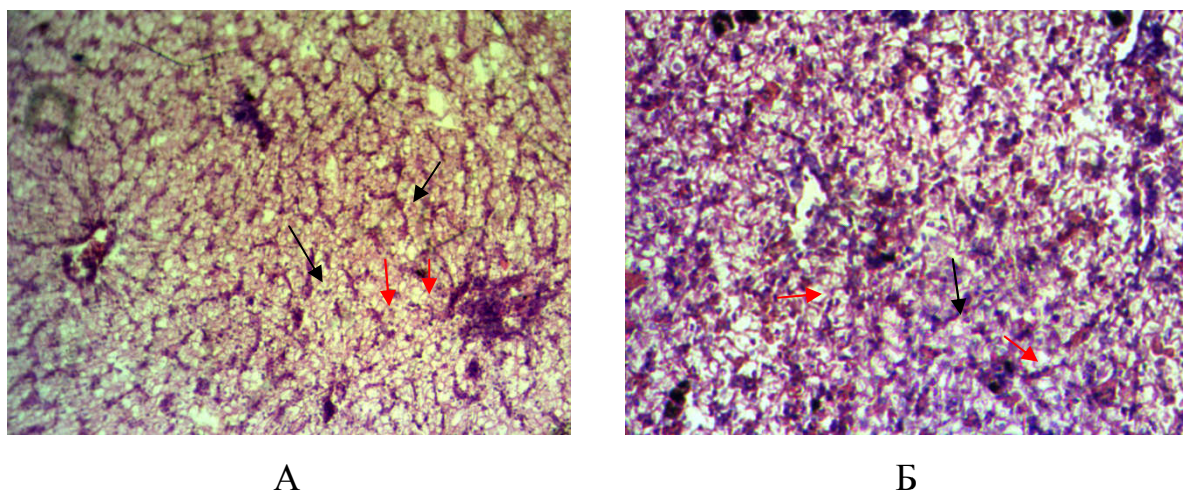


Рис. 5.3.7. Загальна архітектоніка печінки риб контрольної (А) та дослідної (Б) груп, гематоксилін-еозин, 10×:

чорними стрілками вказані синусоїди, червоними – ліпідні включення

В печінці особин, які отримували з кормом препарат ДОН-1R, клітин з ознаками крупно крапельної жирової дистрофії значно більше, ніж у особин з контрольної групи (рис. 5.3.8).

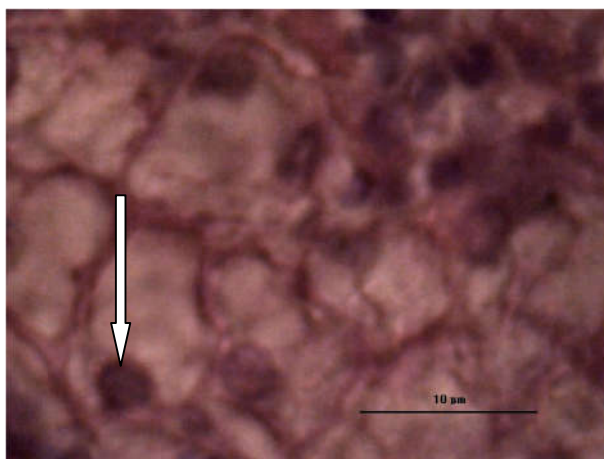


Рис. 5.3.8. Гепатоцити з ліпідними включеннями, гематоксилін-еозин, 100×: стрілкою показано зміщені до периферії ядра гепатоцитів

Гепатоцити дослідних особин мають крупні гіперхромні ядра діаметром близько 4,5 мкм з чітко вираженими численними дрібними

ядерцями. Тоді як ядра гепатоцитів контрольних особин приблизно у 1,5 рази менші, забарвлені рівномірно, мають 1–2 ядерця (рис. 5.3.9).

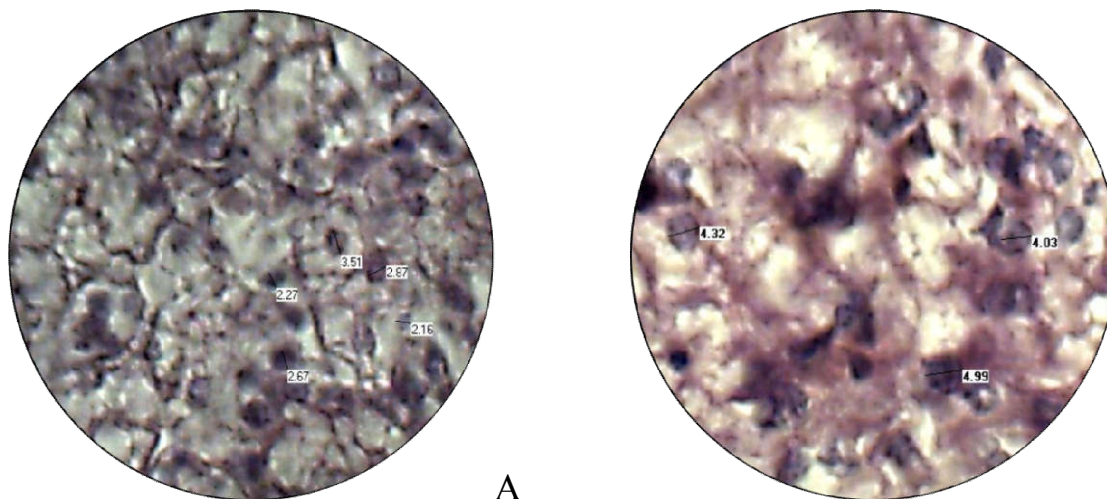


Рис. 5.3.9. Ядра гепатоцитів риб контрольної (А) та дослідної (Б) груп, гематоксилін-еозин, 40×

Відомо, що збільшення розмірів ядер гепатоцитів та кількості ядерців в них може свідчити про посилення регенераційних процесів. Незважаючи на відсутність некротичних ділянок, в печінці особин дослідної групи присутні ознаки ацидофільної дистрофії, яка супроводжується втратою цитоплазмою гепатоцитів нормальної базофілії. У таких клітин цитоплазма ущільнюється, інтенсивно і рівномірно зафарбовується еозином, паралельно проходить пікноліз ядра. У подальшому такі клітини виштовхуються з печінкових пластинок у міжклітинний простір або синусоїди, де утворюють еозинофільні тільця Каунсілмена (рис. 5.3.10).

При частковій ацидофільній коагуляції в розрідженій цитоплазмі клітин, в яких ще не відбувся пікноліз ядер, відзначаються гомогенні рожеві грудочки (тілця Маллорі).

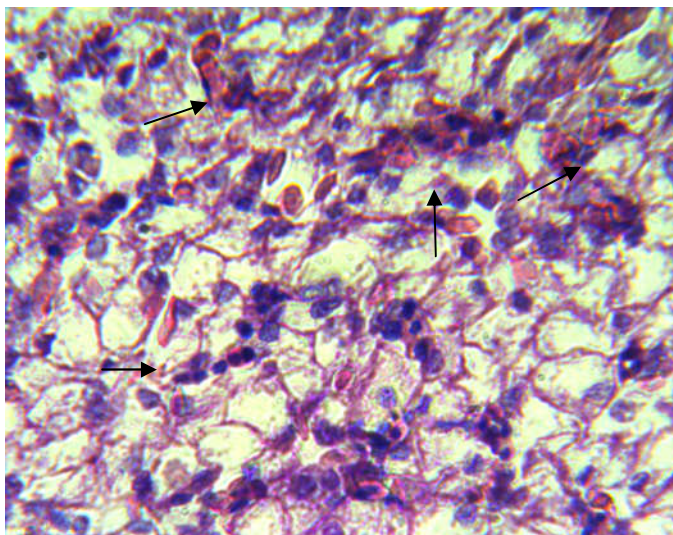


Рис. 5.3.10. Осередки ацидофільної дистрофії в тканині печінки осетрів, які отримували з кормом препарат ДОН-1R, гематоксилін-еозин, 40×

Таким чином, сорокаденне застосування препарату ДОН-1R не призводить до глибоких деструктивних змін у структурі печінки, таких як некроз та фіброз. Проте використання зазначеного препарату викликає реактивні зміни в печінці, що проявляється в ацидофільній коагуляції цитоплазми гепатоцитів. В окремих гепатоцитах проявляються ознаки крупнокрапельної жирової дистрофії. Проте при короткостроковому використанні препарату деструктивні зміни в структурі печінки не досягають критичного рівня, при якому спостерігалось б погіршення загального стану вирощуваних риб.

Згідно результатів проведених досліджень, препарат ДОН-1R доцільно застосовувати в товарному осетрівництві протягом нетривалого терміну для стимуляції масонакопичення. Враховуючи наявність незначного гепатотоксичного ефекту від застосування даного препарату його використання при тривалому вирощуванні осетрів, – для отримання харчової ікри або утриманні ремонтно-маточного стада, – не доцільне.

5.4. Застосування базальтових туфів у кормовиробництві

Як відомо, за собівартістю вирощування риби витрати на корми складають до половини від загальних витрат, тому їх якість і ефективність є визначальними факторами рентабельності риборозведення. Дотепер осетрівництво не забезпечено вітчизняними гранульованими кормами, а вартість імпортованих продукційних кормів настільки велика, що ставить під сумнів рентабельність виробництва. Закупка великих партій корму, їх тривале зберігання веде до зниження їх якості та продукційних властивостей.

Штучний корм для риби має бути фізіологічно рівноцінним природному, а за показниками продуктивної дії – перевищувати його. При розробці штучних кормів головна увага приділяється збалансованості та доступності основних поживних речовин, а також необхідності додавання мікроелементів, біологічно активних речовин, пробіотиків.

Введення нових компонентів до готового гранульованого корму ускладнене і неефективне. Враховуючи це, виникає проблема розробки базової кормової основи, яку можна виготовляти невеликими партіями з подальшим додаванням до неї досліджуваних компонентів. При створенні кормової основи слід враховувати видові особливості кормових потреб. Зокрема, осетрові є бентофагами та харчуються з дна. Відповідно, корми для них мають бути тонучими та володіти високою водостійкістю. Разом з цим, гранули повинні набухати, набуваючи відповідної консистенції, оскільки осетри, на відміну від форелі, не володіють вираженою харчовою активністю.

Характерною особливістю рибних кормів є значно вищий вміст в них білку, ніж в кормах для інших сільськогосподарських тварин. Так, в залежності від виду і віку риби вміст загального білку повинен складати

від 30 до 60% за сухою масою. Натомість, для інших тварин рівень протеїнів у кормах не перевищує 25% [80].

Застосування кормів з низьким вмістом білку не дозволяє в повній мірі реалізувати продукційні можливості індустріальних методів аквакультури, оскільки різко знижує темпи росту, збільшує витрати корму на одиницю приросту, істотно забруднює воду неперетравленими рештками і, в цілому, негативно відображається на економічній ефективності роботи риблицьких господарств. Найоптимальнішим у виробництві рибних комбікормів є застосування білків тваринного походження, джерелами яких можуть слугувати рибне, кров'яне, м'ясо-кісткове борошно, казеїн, желатин. Перевагою їх використання вважається високий рівень засвоюваності організмом риб.

Проте, не всі високобілкові тваринні компоненти є повноцінними за своїм амінокислотним складом. Зокрема, кров'яне борошно (80% протеїну) багате на лізин, фенілаланін, валін, лейцин, однак містить порівняно мало метіоніну та ізолейцину, що істотно знижує його кормову цінність. Желатин практично не містить триптофану та тирозину, а казеїн має недостатній для риб вміст метіоніну та аргініну. Відповідно, вказані компоненти не можуть бути використані як основне джерело білку при виробництві кормів для риб.

Слід зазначити, що компоненти тваринного походження є найбільш дорогівартісними. Здешевлення кормів досягається шляхом включення до їх складу рослинних білків та білкових продуктів мікробного синтезу. Проте, надмірне заміщення тваринних інгредієнтів на альтернативні негативно позначається на функціональному стані організму вирощуваних риб, особливо при їх тривалому застосуванні, зокрема при утриманні ремонтно-маточного поголів'я.

Як відомо, рослинні білки погано перетравлюються в шлунково - кишковому тракті риб, оскільки оточені целюлозною оболонкою та менш доступні до дії протеїназ. Крім того, в соєвих білках, шротах бавовни, гороху містяться трипсинінгібуючі речовини.

Враховуючи вище вказане, в якості основного джерела білка при виготовленні корму нами було використано рибне борошно, додаткових – м'ясо-кісткове борошно, кормові дріжджі, соняшниковий шрот (табл. 2.4.)

Ще однією перевагою використання рибного борошна як основного компоненту комбікормів для риб є високий вміст у його складі ω -3 поліненасичених жирних кислот (17-25 % від загальної маси ліпідів). При цьому співвідношення докозагексаєнова/ейкозопентаєнова кислота наближене до 1, що властиво жирнокислотному складу триацилгліцеролів. Підвищення вмісту фосфоліпідів досягається додаванням риб'ячого жиру. Слід зазначити, що риб'ячий жир, отриманий з прісноводних видів, поступається препаратам, отриманих з морських тварин, як за вмістом поліненасичених жирних кислот так і за співвідношенням ω -3 / ω -6 ПНЖК. Лише у далекосхідних рослиноїдних риб (білий амур та білий товстолобик) вміст ліноленової, ейкозапентаєнової та докозагексаєнової кислот у м'язах та вісцеральному жирі наближається до такого у морських видів риб [33]. Це робить перспективним використання об'єктів прісноводної аквакультури у виробництві препаратів ПНЖК.

Задля вивчення ефекту біологічно активних речовин з рецептури розробленого корму-основи вилучено вітамінні премікси. За потреби вітаміновмісні компоненти можуть бути внесені додатково під час виготовлення малих партій корму. Слід зазначити, що в досліджуваних риб не спостерігалось ознак гіповітамінозів, риби активно набирали масу.

Отримано позитивні результати із застосування експериментальної базової кормосуміші в усіх дослідних групах осетрових, що вирощувались в УЗВ (табл. 5.4.1.).

Таблиця 5.4.1

Приріст маси тіла осетрових в умовах УЗВ при застосуванні експериментальної базової кормосуміші

Вид	Маса, г		Абсолютний приріст маси, г		Відносний приріст маси, %	
	<i>Початкова</i>	<i>Кінцева</i>	<i>За період експерименту</i>	<i>За 1 добу</i>	<i>За період експерименту</i>	<i>За 1 добу</i>
Сибірський осетер (1+)	900±98	1189±126	289±38	4,13±0,55	33,9±5,13	0,49±0,07
СБС (1+)	820±95	1115±137	295±41	4,21±0,63	34,3±5,92	0,49±0,08
Стерлядь (1+)	281±27	332±35	51±10,2	0,73±0,15	17,9±2,47	0,26±0,04
Стерлядь (2+)	954±82	1040±83	86±15,38	1,22±0,22	9,77±1,96	0,14±0,03
Стерлядь (1+) альбінос	134±16	155±19	21±3,5	0,30±0,05	16,1±2,21	0,23±0,03

Найшвидший темп росту за період експерименту показали однолітки сибірського осетра та СБС – середньодобовий приріст їх маси склав 0,49%. Майже удвічі повільніше набирали вагу особини стерляді цієї ж вікової групи, що узгоджується із літературними даними щодо фізіологічних особливостей росту даного виду. Закономірним видається результат щодо уповільнення набирання маси дволітками. Загалом, інтенсивність росту досліджуваних видів риб під час експерименту не виходила за межі рибоводних норм та була задовільною. Кормовий коефіцієнт експериментальної базової кормосуміші виявився порядку 3, що лежить в межах, характерних для вітчизняних кормів (2-4).

Важливою характеристикою сухого гранульованого корму, окрім його поживної цінності, є водостійкість. Особливо це актуально при вирощуванні риби в умовах рециркуляційних систем. Безперервний потік води в рибоводних басейнах УЗВ призводить до швидкого розмивання кормів та забруднення систем очистки води. Окрім того, осетрові характеризуються слабо вираженою кормовою активністю та, відповідно, тривалішим часом повного виїдання корму. Проте, слід враховувати, що надмірна водостійкість призводить до сповільнення перетравлення та засвоєння поживних речовин корму. Важливо, щоб виготовлений корм володів достатньою водостійкістю при швидкому набуханні. Запропонована нами кормова основа у порівнянні з кормами відомих фірм «Scretting» та «Aller Aqua» характеризується повільнішою швидкістю набухання протягом перших 30 хв перебуванні у воді.

До складу досліджуваної основи для кормів можна вводити різноманітні добавки, причому у вигляді як рідких, так і твердих субстанцій. Зокрема, нами було успішно апробовані в якості додаткових компонентів до базової досліджуваної основи корму цеоліти в якості джерела мікроелементів.

Відомо, що завдяки своїм іонообмінним властивостям туфові цеоліти можуть бути використані як мінеральна добавка для збагачення кормів у тваринництві та рибництві. Особливо це актуально при розробці штучних кормів для індустріальної аквакультури в умовах УЗВ. Це пов'язано з тим, що риби, які вирощуються у таких умовах, позбавлені природного способу отримання мікроелементів (мангану, цинку, купруму тощо). Проте відомо, що базальтові туфи з різних родовищ відрізняються як за якісним складом, так і за кількісним співвідношенням окремих елементів. Це вимагає проведення відповідних досліджень із визначення можливості

застосування у кормовиробництві цеолітів з кожного конкретного родовища.

Відповідно, було проаналізовано можливість використання базальтових туфів із родовища «Полицьке – 2» як джерела мінеральних елементів при виготовленні гранульованих кормів для осетрових риб.

У описаний вище дослідний корм-основу під час змішування компонентів додавали подрібнений базальтовий туф у кількості 40 г на 1 кг маси сухих інгредієнтів. Дослідження проводили на дволітках сибірського осетра з початковою середньою масою 820 г. Експериментальне вигодовування осетрів тривало 12 місяців.

Результати проведених досліджень показали, що незважаючи на те, що додавання цеолітів у корми не викликало достовірного підвищення рівня масонакопичення (рис. 5.4.1.), у риб з дослідної та контрольної груп відрізнявся вміст окремих металів у крові.

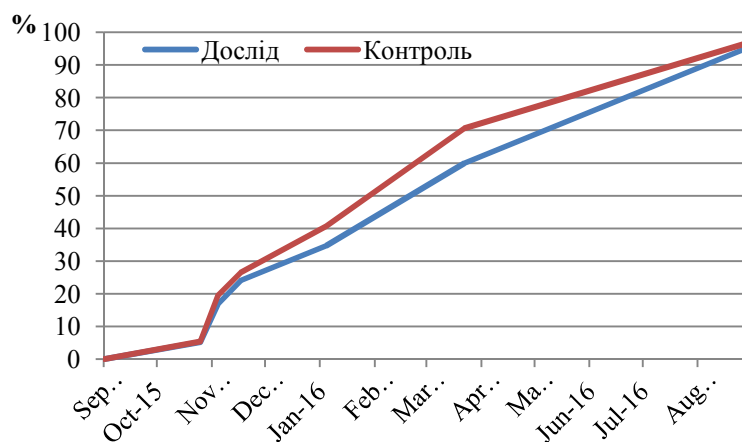


Рис. 5.4.1. Динаміка приросту маси сибірського осетра при використанні гранульованих кормів з цеолітом, у % від початкової маси тіла

Так, у риб, які з кормом отримували базальтовий туф, вміст купруму в крові був на 19% більшим, ніж у риб контрольної групи, натомість для цинку достовірного зростання концентрації в крові не спостерігалось.

Найбільш істотним було підвищення вмісту мангану – у крові дослідних риб рівень даного елемента був у 3 рази вищим, ніж у крові контрольних особин (рис. 5.4.2.).

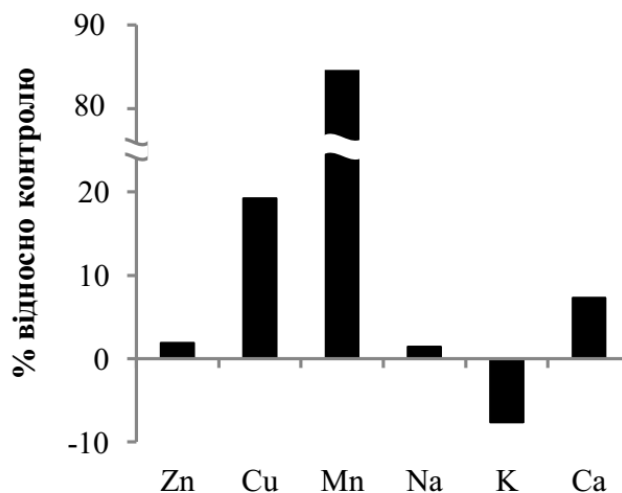


Рис. 5.4.2. Зміна вмісту металів у цільній крові сибірського осетра при вигодовування гранульованими кормами із додаванням цеоліту, у % від значень у контрольній групі тварин

Біологічна роль мангану в організмі риб реалізується переважно через його кофакторну роль. Зокрема, він входить до складу таких металоферментів, як пептидази сироватки крові, декарбоксилази піровиноградної і α -кетоглутарової кислот, фосфоглюкомутази та ін. Манган активує обмін білків та вуглеводів, впливає на фосфорно-кальцієвий обмін.

За нестачі мангану спостерігається погіршення росту риб, формування їх кісткової тканини, процеси кровотворення. Основне депо мангану в організмі риб – скелет і зябра. Потреба риб в цьому елементі коливається для різних риб від 2 до 20 мг/кг корму. Така різниця зумовлена видоспецифічними особливостями обміну мангану у риб. Так, у хрящових риб (зокрема осетрових) його концентрація в печінці значно вища, ніж у костистих (лящ, сазан). Існує різниця і між його вмістом у різних органах та тканинах організму риб. Наприклад, у осетрових у м'язах вміст Mn

становить 0,48-1,12, в крові – 5,4-8,7, а в печінці – 111-333 мг/кг сухої маси. Схожі результати одержані також для білуги та севрюги.

В тілі морських риб вміст мангану зазвичай менший, ніж у річкових. Існує певна залежність між концентрацією мангану в водному середовищі та його вмістом у крові і тканинах риб. Найбільший його вміст виявляється у напівпрохідних риб, менший – у морських і найменший – у океанічних риб.

Враховуючи важливу коферментну роль Мангану та Купруму (церулоплазмін, цитохром с-оксидаза, супероксиддисмутаза та ін.), роль у процесах кровотворення, розвитку хрящової тканини, імовірно, що підвищення їх вмісту буде мати позитивну роль у забезпеченні вищого рівня адаптаційного потенціалу, що особливо важливо для ремонтно-маточного поголів'я.

Отже, базальтовий туф із родовища «Полицьке-2» може бути використаний при вирощуванні риб та живих кормів в якості джерела мінеральних елементів.

Висновки до розділу 5.

З особин дністровської стерляді, вилучених з природних умов, та їх нащадків, отриманих шляхом штучного розмноження, сформоване стійке репродуктивне стадо, що дало можливість вперше провести зариблення Дністра даним видом. Розроблено технологічний режим штучного розмноження дністровської стерляді в умовах рибоводних установок замкнутого водопостачання. Показано, що в умовах рециркуляційних систем самки верхньодністровської стерляді вперше досягають статевої зрілості у трирічному віці, при цьому дозріває 12,5% особин при середній масі тіла 1160 г, а в чотирирічному віці при середній масі тіла 1436 г дозрівають 23,5% самок. Відносна робоча плодючість вперше нерестуючих

трирічних самок склала 5,0 тис., чотирирічних – 9,9 тис. ікринок на 1 кг маси тіла.

Показана можливість використання γ -кротонолактонвмісного препарату ДОН-1R в умовах установок замкнутого водопостачання. Встановлено, що додавання в гранульовані корми препарату ДОН-1R при вигодовуванні осетрових риб стимулює підвищення темпів масонакопичення. При цьому згодовування кормів із додаванням ДОН-1R супроводжується реактивними змінами в печінці. Враховуючи це, препарат ДОН-1R як стимулятор росту доцільно використовувати лише протягом нетривалого періоду при вирощуванні товарної риби. Оптимальний термін застосування препарату складає 20 діб.

РОЗДІЛ. 6. БІОТЕХНОЛОГІЯ ЖИВИХ КОРМІВ В УМОВАХ ІНТЕНСИВНОЇ АКВАКУЛЬТУРИ

6.1. Шляхи модифікації технології культивування живих кормів

Початково, використання живих кормів для отримання рибної продукції було прерогативою ставової аквакультури. Саме ступінь розвитку угруповань організмів природної кормової бази визначає природну рибопродуктивність гідроекосистем, у тому числі рибницьких ставів [55]. Високий ступінь розвитку природної кормової бази в ставах забезпечує істотну економію кормів, а, отже, дозволяє знизити собівартість отриманої рибної продукції. Показано [116], що проведення низки рибоводно-меліоративних заходів, спрямованих на стимулювання розвитку природної кормової бази у ставах, забезпечує збільшення в десятки разів щільності окремих груп кормових організмів у ставових системах порівняно з ріками, які живлять ці стави (рис. 6.1.1).

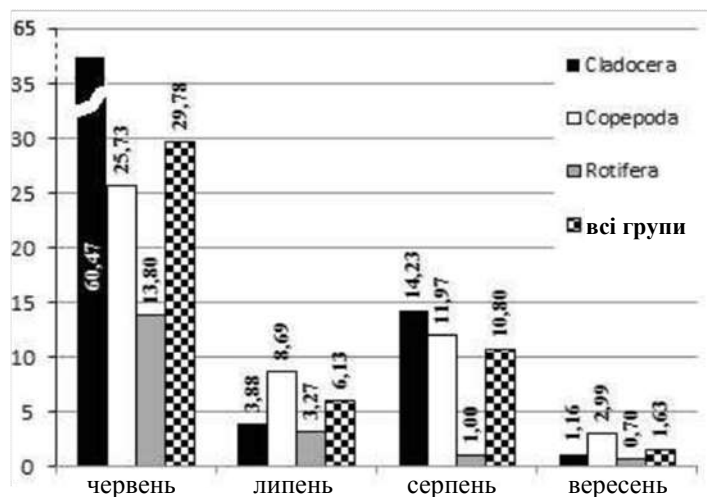


Рис. 6.1.1. Кратність співвідношення щільності зоопланктону в системі став-ріка

Одним з основних методів забезпечення посиленого розвитку кормових організмів у ставах є їх удобрення, що сприяє розвитку у першу чергу фіто- та бактеріопланктону. Особливо ефективним є удобрення вирощувальних ставів, у яких підрощується молодь риби [56]. Проте, технологія стимулювання нарощення біомаси кормових організмів у рибницьких ставах залишається слабо контрольованою, а результат даного процесу залежить від комплексу факторів навколишнього середовища.

Подальшого розвитку вдосконалення технологій живих кормів набуло в декоративній аквакультурі. Цьому сприяла висока роздрібна вартість декоративних риби – їх продають поштучно, а не на вагу, необхідність постійно урізноманітнювати асортимент за рахунок нових для акваріумістики екзотичних видів для підтримки споживчого інтересу на високому рівні, а також необхідність та можливість відтворювати таких риби цілорічно незалежно від сезону. Саме акваріумісти першими почали цілеспрямовано у більше чи менше контрольованих умовах культивувати кормові організми під конкретні види риби, використовуючи при цьому оригінальні підходи та технічні рішення.

Вважається, що одним із основних лімітуючих чинників розведення окремих декоративних видів у промислових масштабах – це брак або повна відсутність на ринку живих кормів, придатних для вигодовування конкретних об'єктів декоративної аквакультури на ранніх стадіях розвитку [260].

Процес індустріалізації отримання товарної аквакультурної продукції супроводжувався заміщенням більшості видів кормів на високопродуктивні гранульовані корми. Проте на етапі отримання рибопосадкового матеріалу найбільш ефективним залишається використання живих кормів [304; 337]. Це пов'язано у першу чергу з легкою засвоюваністю личинками риби нутрієнтів, які надходять з

кормовими організмами, а також їх більшою привабливістю за рахунок рухливості. Тому у ларвакультурі кормові організми застосовуються в першу чергу як стартові корми.

Як відомо, одним з критичних моментів онтогенезу риб є перехід від ендогенного до екзогенного живлення. Саме в цей нетривалий часовий проміжок відмічаються найбільші показники смертності, які можуть сягати 70–80%. Це пов'язане з низькою секреторною активністю травних залоз личинок риб, внаслідок чого неадекватна годівля призводить до швидкої загибелі [363; 364]. Використання живого корму як стартового дозволяє компенсувати низьку гідролітичну активність травної системи личинок за рахунок ензимів кормових організмів [284; 275], які з одного боку забезпечують автоліз самих кормових об'єктів, а з іншого – активують зимогени у кишковошлунковому тракті личинок риб, сприяючи тим самим запуску процесу травлення [245].

Попри всі переваги живих кормів над гранульованими суттєвим недоліком їх використання в аквакультурі є значна трудоемність процедури культивування. Відповідно, одним із основних завдань досліджень у даній сфері є розробка технологій, які б забезпечували інтенсивне нарощення культур кормових організмів при збереженні конкурентної собівартості отриманої біомаси. При цьому, отримані живі корми повинні забезпечувати всі фізіологічні потреби об'єктів аквакультури в нутрієнтах (рис. 6.1.2).

Основні витрати в процесі культивування живих кормів пов'язані з приготуванням поживних середовищ, які у свою чергу складаються з власне культиваційного середовища та первинних кормових об'єктів. Останні можуть бути представлені мікроводоростями, різними видами дріжджів, бактеріями, у тому числі пробіотичними, найпростішими тощо [86; 49; 146; 255].

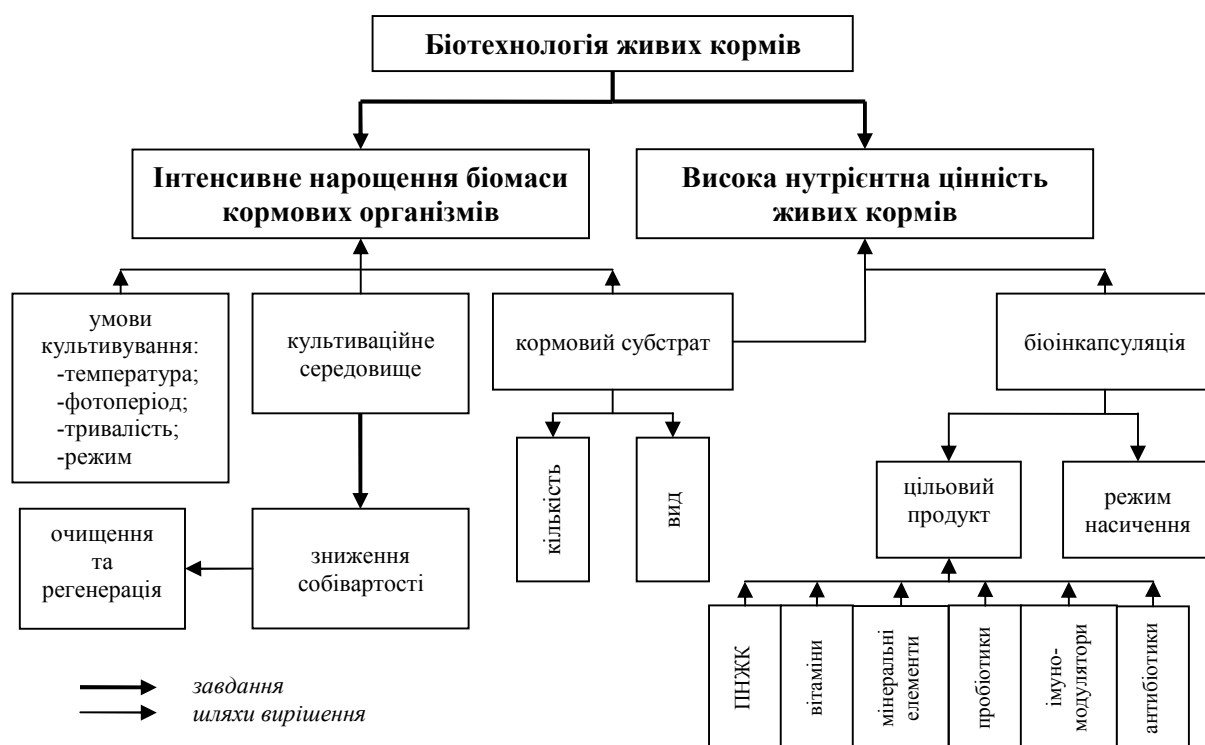


Рис. 6.1.2. Основні завдання біотехнології живих кормів та шляхи їх вирішення

Прискорення темпів нарощення біомаси кормових організмів забезпечується підбором оптимальних умов культивування. Із зростанням швидкості розмноження та щільності організмів, що культивуються, важливо забезпечити стабільність умов, адже межі толерантності для культури, яка знаходиться в напруженому стані, істотно звужуються.

Здешевлення технології отримання живих кормів можливе у першу чергу за рахунок заміни стандартних культиваційних середовищ на альтернативні з невисокою вартістю. Якщо це неможливо, доцільно застосовувати процедури регенерації культиваційних середовищ шляхом їх очистки.

Важливо, щоб кормові організми володіли високою нутрієнтною цінністю, чого не завжди вдається досягнути при інтенсивному нарощенні

біомаси. Одним з найбільш ефективних методів аліментарної корекції живих кормів є біоінкапсуляція.

6.1.1. Біоінкапсуляція поліненасичених жирних кислот у науплії *Artemia*

Універсальним стартовим живим кормом традиційно вважається артемія. Незважаючи на численні технологічні переваги її застосування, проблемою залишається невеликий вміст в її складі поліненасичених жирних кислот, зокрема докозагексаєнової та ейкозапентаєнової [295]. Для усунення даного недоліку застосують технології біоінкапсуляції жирних кислот у кормові організми [223]. Нами було апробовано застосування двох препаратів з різним співвідношенням докозагексаєнової та ейкозапентаєнової жирних кислот, що дозволило істотно підвищити вміст даних жирних кислот в живих кормах.

Початковий вміст докозагексаєнової та ейкозапентаєнової кислот у науплій артемії може істотно відрізнятись. Це залежить від місця походження та періоду збору цист. Часто науплії є дефіцитними за вмістом цих есенціальних для риб поліненасичених жирних кислот. Для збагачення артемії ДГК та ЕПК нами були застосовані препарати з різним вмістом зазначених ПНЖК. Оскільки процедура біоінкапсуляції може супроводжуватись загибеллю кормових організмів, важливо було оцінити не лише ефективність засвоєння наупліями артемії поліненасичених жирних кислот, а й підібрати оптимальну схему збагачення, при якій смертність буде найменшою.

Застосування препарату з надвисоким вмістом докозагексаєнової кислоти (більше 50 % від загального вмісту жирних кислот) призводить до

зростання смертності науплій під час проведення процедури біоінкапсуляції.

Встановлено, що найвища смертність науплій протягом перших 12 годин біоінкапсуляції спостерігалася при одноразовому внесенні всієї добової дози препарату на початку процедури (рис. 6.1.3).

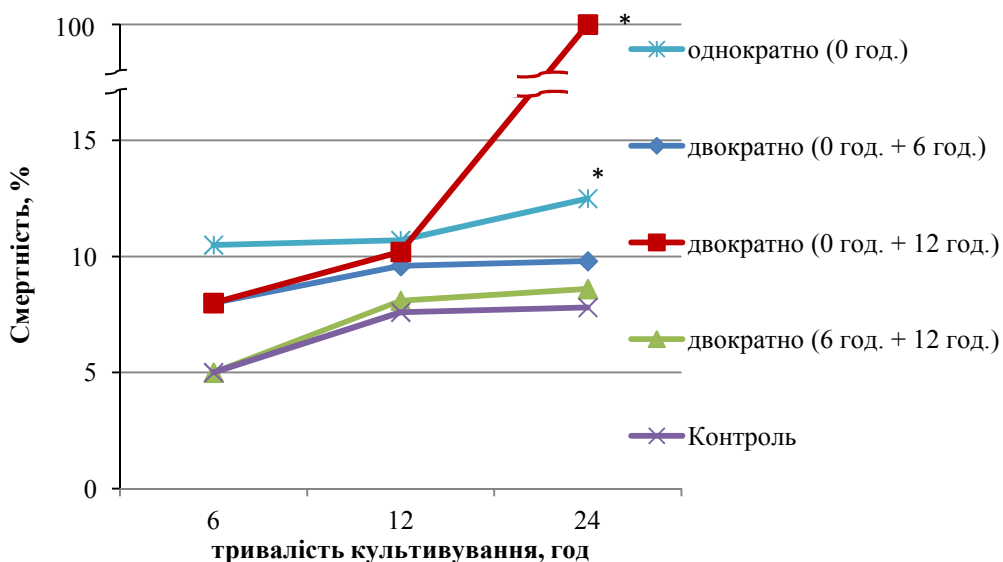


Рис. 6.1.3. Індекс кумулятивної смертності (%) науплій *Artemia* при різних схемах збагачення препаратом жирних кислот

Такий ефект може бути викликаний накопиченням продуктів окиснення ліпідів препарату під час процедури біоінкапсуляції [274, 281, 294]. Очевидно, при одноетапному внесенні науплії не встигають швидко поглинати емульсію, внаслідок чого ненасичені жирні кислоти зазнають окислення в процесі аерації середовища. Продукти ПОЛ, як відомо, спричиняють токсичний вплив внаслідок ініціації в організмі вільнорадикальних процесів. Окрім того, надлишок ліпідів у середовищі викликає утворення плівки на зябрах артемії, перешкоджаючи тим самим газообміну, що, у свою чергу, спричиняє підвищення смертності.

Порівняно з одноетапною схемою біоінкапсуляції двостадійне внесення препарату однаковими частинами дозволяє зменшити рівень смертності протягом перших 12 годин, (рис. 6.1.3). При такій схемі науплії

ефективніше засвоюють емульсію. Це запобігає її окисленню і, як наслідок, зменшує смертність. Протягом 6-8 годин після вилуплення фільтраційна активність науплій залишається низької, а тому емульсія поглинається слабо. Після закінчення зазначеного періоду науплії починають активно житися [190], більш ефективно фільтрують емульсію, що не дозволяє накопичуватись продуктам окислення ПНЖК.

Важливо, щоб впродовж процедури біоінкапсуляції науплії не збільшувались в розмірах і залишались таким чином доступними для личинок риб. Проведення насичення у два етапи не викликало достовірних змін в лінійних розмірах науплій порівняно з контролем (рис. 6.1.4).

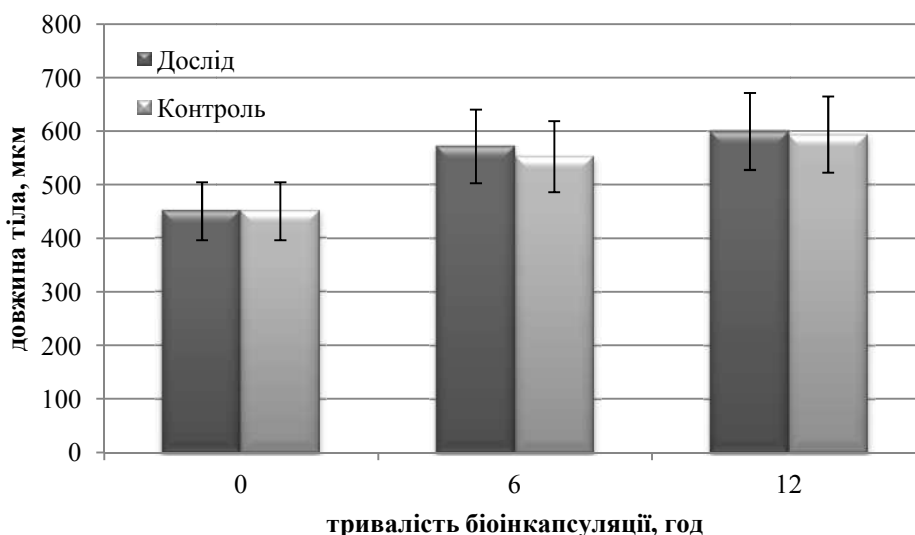


Рис. 6.1.4. Лінійні розміри збагачених та незбагачених ПНЖК науплій артемії

Двостадійне насичення, розпочате із 6-ти годинною затримкою, також забезпечило достатньо низьку смертність науплій (рис. 6.3.1). Однак збільшення тривалості біоінкапсуляції не бажане, оскільки науплії в цей час ростуть, а їх розміри повинні відповідати величині ротового апарату личинок риб [337]. Збільшення до 12 годин інтервалу між внесенням

порцій препарату викликає загибель усіх науплій через 24 год. від початку процедури біоінкапсуляції. У загальному, процедура біоінкапсуляції ПНЖК-вмісним препаратом викликає незначне підвищення рівня смертності науплій, порівняно з контрольною групою, протягом перших 12 годин.

При вигодовуванні ранніх личинок риб необхідно, щоб розмір кормового об'єкту відповідав величині ротового апарату риби. У зв'язку з цим, доцільно використовувати 12-годинну, а не 24-годинну схему біоінкапсуляції артемії. З іншого боку одностадійне насичення знижує трудоемкість технології отримання рибопосадкового матеріалу.

У технології під рощення личинок риби до життєздатного стану як стартовий корм використовують науплії артемії, які щойно вилупились з цист. Такі особини максимально зберігають запасені в яйцях поживні речовини, ще не витрачаючи їх на рухову активність та забезпечення метаболічних процесів. Відповідно, важливим є з'ясування як відбувається зміна нутрієнтного складу науплій впродовж усього періоду біоінкапсуляції досліджуваного препарату.

На відміну від контрольної групи, для якої відмічене зниження як білків, так і ліпідів, біоінкапсуляція есенціальних жирних кислот супроводжується суттєвим підвищенням вмісту ліпідів у тілі науплій (рис. 6.1.5 А).

Вміст протеїнів артемії найбільш різко знижується безпосередньо після вилуплювання. Це, пов'язано з видаленням хоріону при її декапсуляції [199]. У подальшому, до початку екзогенного живлення науплій, відбувається розщепленням резервних протеїнів [141]. При наявності кормового субстрату початок фільтраційної активності супроводжується підвищенням вмісту білку.

Відомо, що ліпіди в раціоні гідробіонтів відіграють

протеїнзберігаючу функцію [80], у присутності ліпідів білки практично не витрачаються на задоволення енергетичних потреб, чим пояснюється сповільнення їх утилізації в подальшому у науплій, які отримували емульсію ПНЖК-вмісного препарату.

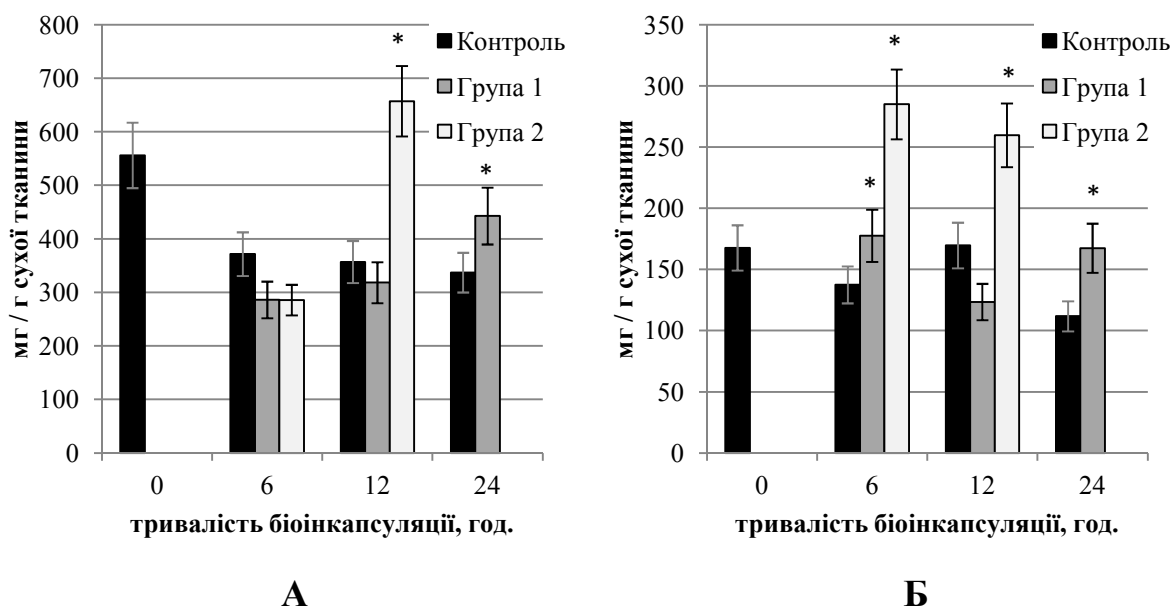


Рис. 6.1.5. Динаміка вмісту білків (А) та ліпідів (Б) у наупліях артемії впродовж біоінкапсуляції ПНЖК-вмісного препарату 1

** різниця, порівняно з контрольною групою, статистично достовірна при $p \leq 0,05$.*

Закономірним є те, що вміст ліпідів, як і протеїнів, у контрольній групі на кінець експерименту зменшився, що зумовлено виснаженням запасних речовин [199, 281, 184]. У той же час зростання вмісту ліпідів в артемії обох дослідних груп пов'язано з ефективним засвоєнням присутніх у препараті жирних кислот. Накопичення ліпідів в живих кормах при їх збагаченні іншими джерелами поліненасичених жирних кислот також описано низкою авторів [208, 292].

Окрім основних нутрієнтів, у науплій після вилуплення знижується також вміст каротиноїдів. Відомо, що вміст каротиноїдів, отриманих наупліями артемії з цист, значно зменшується вже на перших стадіях онтогенезу, зокрема за рахунок кантаксантину [296]. Так, нашими

дослідженнями було продемонстровано, що науплії протягом 24-х годин зменшується в 4,5 ризи.

Важливо в процесі збагачення кормових організмів тим чи іншим цільовим продуктом не втрачати основні поживні речовини, зокрема протеїни. При цьому, важливо, щоб білок залишався повноцінним за своїм амінокислотним складом. Було проаналізовано амінокислотні профілі науплій, які збагачувались за двостадійною схемою, як найбільш ефективною з точки зору виживаності.

Біоінкапсуляція артемії поліненасиченими жирними кислотами не призводить до істотних змін у амінокислотному профілі кормових організмів (рис. 6.1.6).

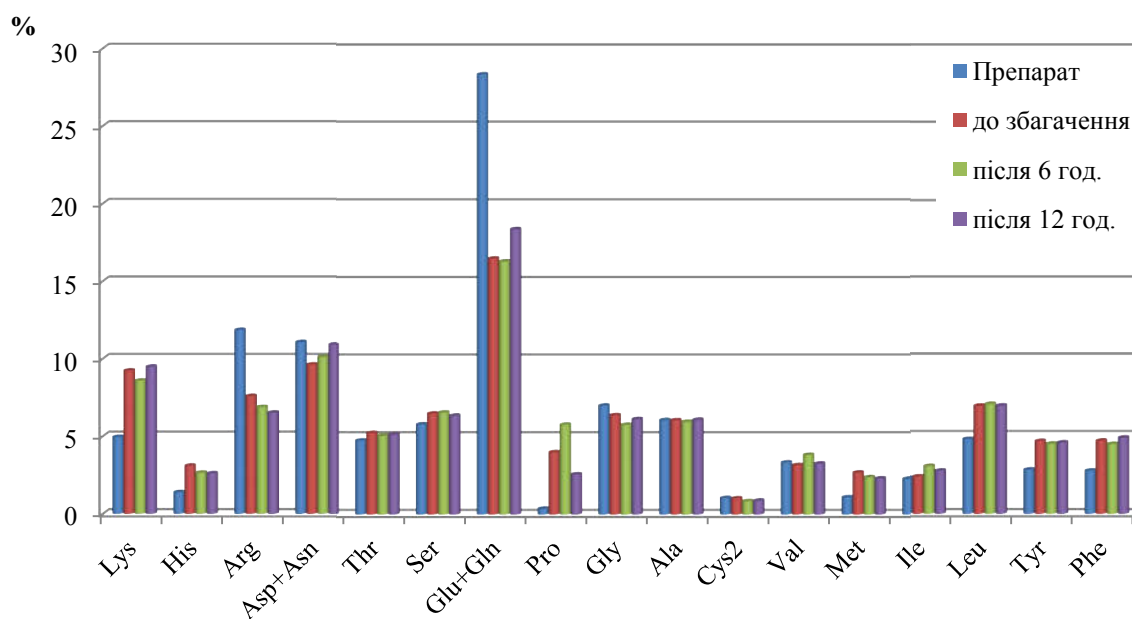


Рис. 6.1.6. Амінокислотний профіль науплій артемії при біоінкапсуляції ПНЖК-вмісним препаратом 1

Дослідження жирнокислотного профілю науплій і ПНЖК-вмісного препарату засвідчило наявність 25 жирних кислот у препараті, 4 з яких не ідентифікувались в інтактних наупліях. До насичення в наупліях було ідентифіковано 32 жирні кислоти, а після – 35, з них 20 насичених (НЖК),

8 мононенасичених жирних кислот (МНЖК), 11 – поліненасичених (ПНЖК). Проте, частка ПНЖК у всіх групах артемії переважала частку НЖК та МНЖК (табл. 6.1.1).

Таблиця 6.1.1

Жирнокислотний склад науплій артемії при застосуванні ПНЖК-вмісного препарату 1, $M \pm m$, $n=3$

№	Жирні кислоти		Масова частка, %			
			ПНЖК-вмісний препарат	Artemia до збагачення	Artemia при збагаченні препаратом	
					6 год.	12 год.
Насичені жирні кислоти						
1	Капронова	C6:0	0,215±0,0096	-	1,142±0,0974	1,399±0,1043
2	Енантова	C7:0	-	-	0,024±0,0022 ³	0,052±0,0045 ²
3	Каприлова	C8:0	0,384±0,0147	0,161±0,0160 ^{2,3}	1,553±0,1561 ^{1,3}	3,698±0,3369 ^{1,2}
4	Пеларгонова	C9:0	0,104±0,0066	0,014±0,0015	-	-
5	Капринова	C10:0	0,007±0,0003	0,012±0,0011 ^{2,3}	0,092±0,0066 ^{1,3}	0,179±0,0142 ^{1,2}
6	Ундецилова	C11:0	0,008±0,0005	0,016±0,0015 ^{2,3}	0,161±0,0144 ^{1,3}	0,323±0,0263 ^{1,2}
7	Ізолауринова	Ci12:0	-	0,027±0,0028 ^{2,3}	0,109±0,0115 ^{1,3}	0,179±0,0181 ^{1,2}
8	Лауринова	C12:0	0,020±0,0010	0,044±0,0051	0,037±0,0031	0,029±0,0021
9	Тридеканова	C13:0	-	-	0,057±0,0051 ³	0,080±0,0064 ²
10	Ізоміристинова	Ci14:0	-	0,071±0,0060 ^{2,3}	0,145±0,0153 ^{1,3}	0,234±0,0227 ^{1,2}
11	Міристинова	C14:0	0,632±0,0236	0,629±0,0582	0,716±0,0660	0,573±0,0421
12	Пентадеканова	C15:0	0,032±0,0021	0,112±0,0131	0,097±0,0075	0,082±0,0070
13	Ізопальмітинова	Ci16:0	-	0,511±0,0505	0,659±0,0670	0,724±0,0851
14	Пальмітинова	C16:0	13,680±0,4797	11,484±1,3346	11,090±1,0951	10,190±0,9882
15	Маргарінова	C17:0	0,036±0,0021	0,655±0,0699	0,667±0,0638	0,690±0,0503
16	Ізостеаринова	Ci18:0	-	0,791±0,0888	0,810±0,0803	0,677±0,0812
17	Стеаринова	C18:0	0,829±0,0257	3,902±0,4148	3,467±0,2529	3,632±0,3620
18	Арахінова	C20:0	0,542±0,0313	5,137±0,4910	5,218±0,4684	5,038±0,4512
19	Генейкозанова	C21:0	0,187±0,0057	0,120±0,0101 ^{2,3}	0,229±0,0227 ^{1,3}	0,915±0,0657 ^{1,2}
20	Бегенова	C22:0	-	0,697±0,0743	0,642±0,0649	0,784±0,0695
21	Лауролейнова	C12:1	-	0,034±0,0026 ^{2,3}	0,095±0,0091 ^{1,3}	0,133±0,0122 ^{1,2}
22	Міристоолейнова	C14:1	0,048±0,0024	0,795±0,0854	0,817±0,0576	0,658±0,0573
23	Пентадеценова	C15:1	-	0,080±0,0070	0,100±0,0101	0,075±0,0070

продовження таблиці 6.1.1

Мононенасичені жирні кислоти						
24	Пальмітоолеїнова	C16:1	0,446±0,0280	3,832±0,4039	3,785±0,3265	3,300±0,3239
25	Гептадецена	C17:1	0,115±0,0059	1,174±0,1062	1,194±0,1226	1,100±0,1420
26	Олеїнова	C18:1	11,414±0,4769	26,409±2,6572	24,905±2,4013	23,734±2,3878
27	Гондова	C20:1	0,562±0,0350	0,422±0,0435 ^{2,3}	0,659±0,0613 ^{1,3}	1,219±0,1165 ^{1,2}
28	Ерукова	C22:1	-	1,768±0,1665	-	-
Поліненасичені жирні кислоти						
29	Тетрадекадієнова	C14:2	-	0,482±0,0477	0,517±0,0509	0,434±0,0447
30	Гексадекадієнова	C16:2ω-6	-	1,034±0,0964 ³	0,882±0,0798	0,709±0,0584 ¹
31	Лінолева	C18:2 ω-6	8,318±0,4145	6,229±0,7086	6,157±0,6324	5,736±0,62
32	αЛіноленова	C18:3ω-3	1,246±0,0794	30,648±3,3478	29,409±3,5717	27,220±2,60
33	Ейкозадієнова	C20:2 ω-6	0,699±0,0456	-	0,147±0,0140 ³	0,462±0,0476 ²
34	Арахідонова	C20:4ω-6	-	1,964±0,1592	1,890±0,1611	2,200±0,2003
35	Ейкозапентаєнова	C20:5 ω-3	3,663±0,1686	-	1,703±0,1554	1,929±0,2371
36	Докозатрієнова	C22:3ω-3	2,011±0,0560	-	-	-
37	Докозатетраєнова	C22:4 ω-6	0,855±0,0390	0,153±0,0115	-	-
38	Докозапентаєнова	C22:5 ω-3	-	-	-	0,117±0,0104
39	Докозагексаєнова	C22:6 ω-3	53,940±3,1644	0,177±0,0144 ^{2,3}	0,034±0,0026 ^{1,3}	0,735±0,0605 ^{1,2}

¹ різниця, у порівнянні з групою артемії до насичення, статистично достовірна при $p \leq 0,05$;

² різниця, у порівнянні з групою артемії при 6-годинному насиченні, статистично достовірна при $p \leq 0,05$;

³ різниця, у порівнянні з групою артемії при 12-годинному насиченні, статистично достовірна при $p \leq 0,05$.

Показано збільшення вмісту окремих ПНЖК як родини ω3, так і ω6 в групах, які збагачувалися препаратом (ейкозадієнова та ейкозапентаєнова). Проте, загальна частка ω-3 і ω-6 поліненасичених жирних кислот практично не змінювалася. Також встановлено зростання частки насичених жирних кислот та зниження мононенасичених.

Слід звернути увагу на відсутність в інтактній досліджуваній артемії ейкозапентаєнної кислоти. Ймовірно, це зумовлено походженням цист артемії. Зазвичай, в артемії наявні обидві ПНЖК, або відсутня саме ДГК, при цьому ЕПК, хоч і в незначних кількостях, але ідентифікується [137, 157, 297, 208].

Зниження частки ДГК і поява ЕПК після 6 годин збагачення може бути зумовлено здатністю докозагексаєнної кислоти до

ретроконвертування в ейкозапентаєнову [294]. Інтенсивність ретроконвертації ДГК в ЕПК залежить від низки чинників: виду артемії, методики її збагачення, освітлення, температури тощо [355].

Аналіз мінерального складу артемії показав істотні відмінності у вмісті іонів заліза в цистах і наупліях артемії (табл. 6.1.2).

Таблиця 6.1.2

**Зміна мінерального складу науплій артемії при біоінкапсуляції
ПНЖК-вмісним препаратом 1, (мг/кг)**

		Волога, %	Зола, %	K ⁺	Na ⁺	Ca ²⁺	Fe ^{2+/3+}	Zn ²⁺	Ni ²⁺	Cu ²⁺
цисти		9,2 ± 1,0	4,0 ± 0,2	4985,1± 533,2	2046,2 ± 145,1	155,8 ± 14,8	227,7 ± 14,3	67,1 ± 5,8	1,0 ± 0,1	7,1 ± 0,5
науплії до насичення		91,5 ± 9,3	7,6 ± 0,6	411,2 ± 30,8	2723,8 ± 251,2	134,3 ± 11,1	13,2 ± 1,3	15,1 ± 1,1	0,40 ± 0,04	2,6 ± 0,3
Контрольна група	6 год.	88,7 ± 9,1	4,8 ± 0,4	712,0 ± 55,7	3293,1 ± 215,5	156,6 ± 16,2	33,8 ± 3,3	22,3 ± 2,0	0,7 ± 0,1	3,9 ± 0,4
		89,0 ± 8,8	7,9 ± 0,7	582,7 ± 40,8	3624,4 ± 262,0	108,3 ± 8,9	19,6 ± 2,1	15,9 ± 1,8	0,40 ± 0,03	3,2 ± 0,3
	12 год.	88,6 ± 9,0	12,9 ± 1,4	948,8 ± 76,8	6206,2 ± 517,56	160,8 ± 12,3	17,6 ± 1,3	29,1 ± 2,09	1,8 ± 0,2	2,2 ± 0,2
		86,7 ± 8,9	15,7 ± 1,5*	922,2 ± 91,5*	9015,6 ± 971,0*	144,2 ± 12,8	17,6 ± 1,4*	22,0 ± 1,8	0,7 ± 0,1	2,4 ± 0,2*
	24 год.	88,6 ± 8,7	15,3 ± 1,4*	859,2 ± 69,9*	6967,3 ± 653,3*	127,1 ± 13,2	16,2 ± 1,7	28,6 ± 2,0*	1,1 ± 0,1*	4,4 ± 0,4*
		90,9 ± 9,2	7,0 ± 0,8*	712,1 ± 51,1*	2693,0 ± 229,3*	134,6 ± 11,3*	21,7 ± 2,1	27,8 ± 2,1	0,7 ± 0,1*	2,5 ± 0,2
Дослідна група 1	6 год.	86,4 ± 9,0	10,0 ± 0,8*	1512,6 ± 113,1*	13739,5 ± 1103,9*	158,7 ± 13,1	23,6 ± 2,1*	20,0 ± 2,0	0,7 ± 0,1	4,6 ± 0,5
	12 год.	88,4 ± 8,7	5,6 ± 0,6*	727,7 ± 64,4*	3769,8 ± 401,9	135,9 ± 14,4*	15,4 ± 1,6	21,0 ± 1,9*	0,5 ± 0,1	2,3 ± 0,2*
Дослідна група 2										

*різниця між дослідною та контрольною групами статистично достовірна при $p \leq 0,05$.

Процедура біоінкапсуляції науплій досліджуваним препаратом викликає зростання вмісту Na⁺, K⁺ та Zn²⁺ в обох дослідних групах. Зміна

вмісту натрію та калію може бути пов'язана з рівнем проникності мембран, стан яких безпосередньо залежить від наявності фосфоліпідів. До складу останніх, як відомо, входять поліненасичені жирні кислоти. Забезпечення наявності цих обох елементів у стартових кормах в достатній для личинок риби кількості сприятливо впливатиме на розвиток нервової та м'язової тканин на ранніх етапах онтогенезу.

Кофакторна функція цинку для більш як вісімдесяти ферментів зумовлює його важливу роль в метаболічних процесах. Окрім того, застосування збагаченої цинком і марганцем науплій забезпечує нормальний розвиток скелету личинок риби [351].

У артемії найвищі рівні загальної протеолітичної активності спостерігаються при лужних та нейтральних значеннях рН (рис 6.1.7).

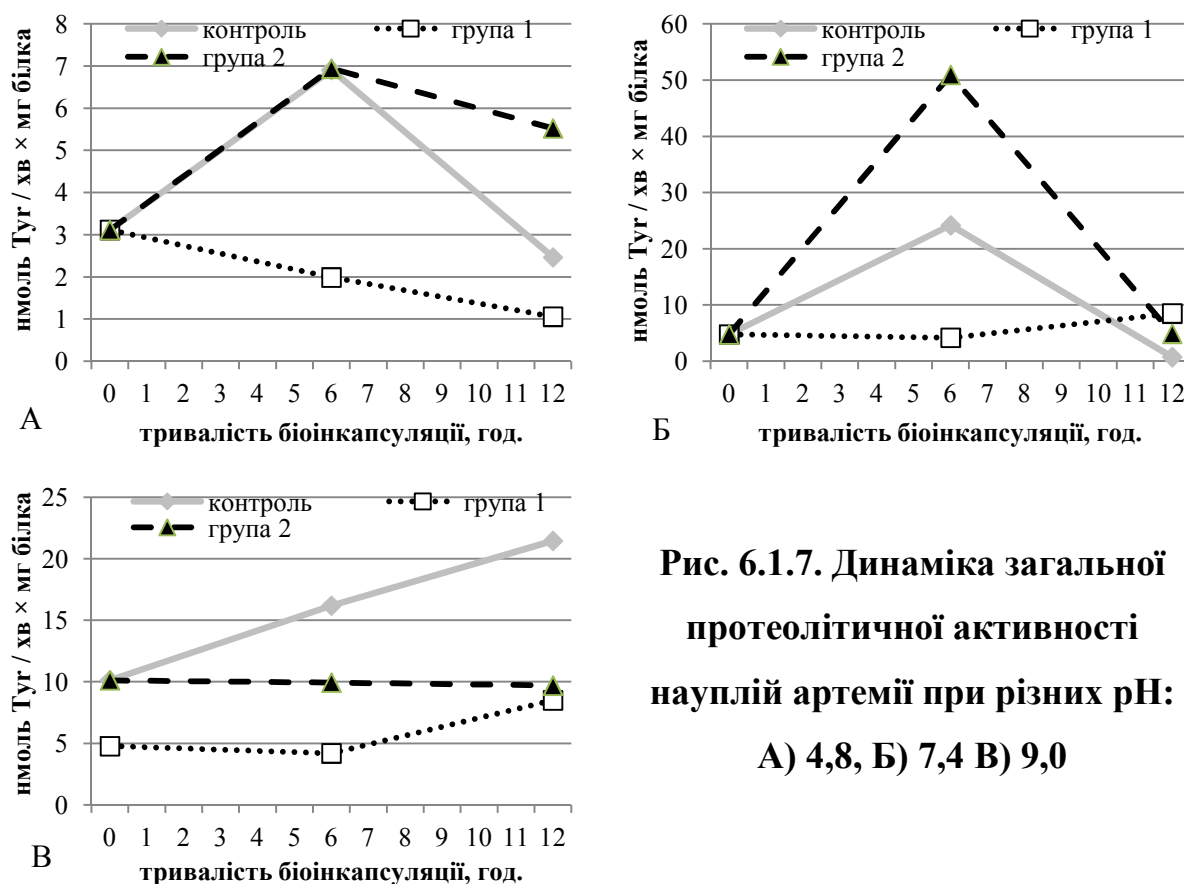


Рис. 6.1.7. Динаміка загальної протеолітичної активності науплій артемії при різних рН:
А) 4,8, Б) 7,4 В) 9,0

Це підтверджується літературними даними [199]. Аналіз динаміки загальної протеолітичної активності в артемії експериментальної групи 1 засвідчив її підвищення порівняно з початковим значенням при всіх досліджуваних значеннях рН. При цьому протеазна активність була найвищою при лужному рН вже через 12 годин після початку біоінкапсуляції. Подібна тенденція спостерігалась також при рН, близькому до нейтрального. При кислому рН протеолітична активність найнижча, а її пік припадав на кінець періоду насичення.

У науплій артемії 2-ї експериментальної групи спостерігалось стрімке зростання протеазної активності при нейтральному значенні рН на 6 год. від початку біоінкапсуляції, в той час як протеазна активність при кислому та лужному рН залишалась практично незмінною (рис. 6.1.7).

У науплій артемії зафіксовано зростання α -амілазної активності протягом всього періоду біоінкапсуляції як в контрольній, так і в дослідних групах. Проте, у експериментальній групі 2 значення вказаної ензиматичної активності були майже вдвічі нижчими, ніж у контрольній та 1-ій експериментальній групах (рис. 6.1.8, А).

У контрольній та 2-ій експериментальній групах також зростала ліпазна активність. Попри це, однократне внесення препарату супроводжується пригніченням ліпазної активності в науплій 1-ої експериментальної групи (рис. 6.1.8, Б).

За результатами проведених досліджень, показано, що при проведенні біоінкапсуляції ПНЖК в науплії артемії однократне внесення препарату в середовище культивування не стимулює гідролітичну ензиматичну активність кормових організмів, а також при цьому не відбувається суттєвого накопичення нутрієнтів. Одноразове внесення добової дози препарату або пригнічує гідролітичну активність, або не впливає на неї, тому такий режим біоінкапсуляції є малоефективним.

Окрім того, при застосуванні такої схеми біоінкапсуляції досліджуваним препаратом спостерігається найвищий рівень смертності.

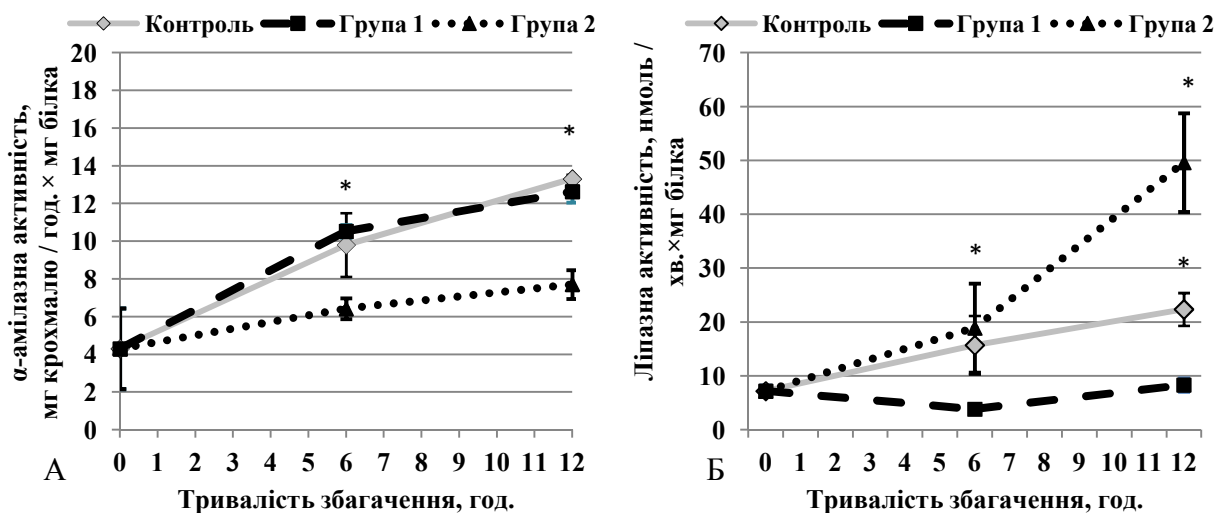


Рис. 6.1.8. Динаміка α -амілазної (А) та ліпазної (Б) активності у артемії при застосуванні ПНЖК-вмісного препарату
** відмінності статистично достовірні при $p \leq 0,05$.*

При двохетапному збагаченні помітно зростає ліпазна активність, що пов'язано зі споживанням та засвоєнням ліпідів препарату. Разом з іншими ферментами [172], ліпази артемії можуть бути екзогенним чинником підвищення активності ферментів травного тракту личинок риби [200].

Як відомо, в організмі тварин різних таксономічних груп постійно утворюються активні форми кисню, які є надзвичайно реакційно здатними. Інтенсифікація процесів вільнорадикального окиснення під дією активних форм кисню призводить до окиснення поліненасичених жирних кислот, що викликає порушення цілісності та функціональності біологічних мембран [43]. У результаті ПОЛ утворюються гідропероксиди ліпідів, дієнові кон'югати та ТБК-активні продукти. Первинні продукти пероксидного окиснення ліпідів (гідроперекиси ліпідів) нестійкі і розпадаються з утворенням вторинних продуктів. Серед них найбільш відомий малоновий диальдегід, який є основним ТБК-активним продуктом [79].

Через постійну аерацію середовища, процедура насичення артемії поліненасиченими жирними кислотами може ініціювати ПОЛ та утворення

ТБК-активних продуктів. Проте, дослідження засвідчили, що при одноетапному внесенні препарату ПНЖК (1-а дослідна група) вміст ТБК-активних продуктів у артемії достовірно не відрізняється від контрольних значень. Тоді як при двоетапній біоінкапсуляції у науплій артемії (2-а дослідна група) вміст ТБК-активних продуктів протягом експерименту зменшується (рис. 6.1.9).

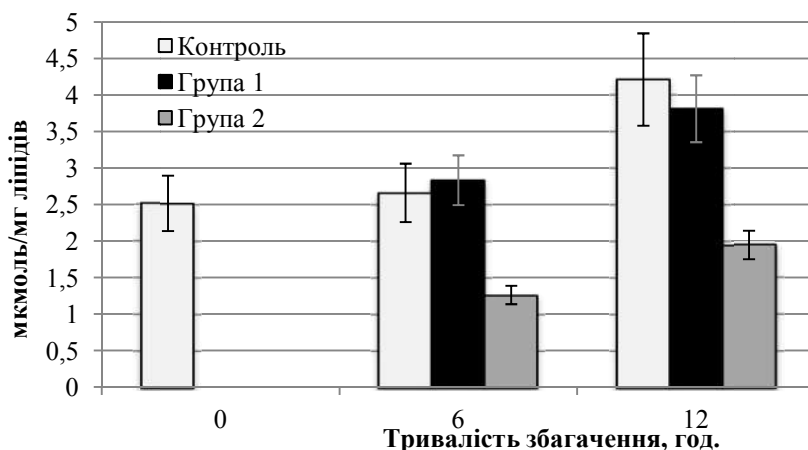


Рис. 6.1.9. Динаміка вмісту ТБК-активних продуктів у наупліях при біоінкапсуляції ПНЖК-вмісного препарату

** відмінності між групами статистично достовірні при $p \leq 0,05$.*

Це може бути пояснено кращим засвоєнням емульсії, внаслідок чого в аерованому середовищі залишається менше ліпідів, які можуть окиснюватись. У літературі показано, що зниження інтенсивності окиснення ліпідів при збагаченні артемії ПНЖК-вмісними препаратами також може бути досягнуто за рахунок додаткового внесення сполук із антиоксидантними властивостями, зокрема поліфенолів [354].

Отже, використання препарату із п'ятдесятивідсотковим вмістом докозагексаєнової кислоти для збагачення поліненасиченими жирними кислотами науплій артемії не викликає значних втрат артемії протягом перших 12 годин в процесі біоінкапсуляції. Використання препарату сприяє підвищенню вмісту загальних ліпідів і накопиченню докозагексаєнової та ейкозапентаєнової жирних кислот. Крім того,

застосування препарату в загальному підсумку не викликає зниження вмісту білка і супроводжується підвищенням рівня гідролітичної активності, що сприяє процесам травлення у личинок риб при їх переході на екзогенне живлення.

Також було апробовано ефективність застосування іншого ПНЖК-вмісного препарату з удвічі вищою, ніж в попередньому, часткою ейкозапентаєновою кислотою в жирнокислотному профілі. Загалом в даному препараті співвідношення докозагексаєнової кислоти до ейкозапентаєнової складало 2,5.

Як і в попередньому випадку, застосування даного препарату при біоінкапсуляції жирних кислот у науплії *Artemia* здійснювали за різними схемами для виявлення найбільш ефективної дози та розробки режиму його використання.

Аналіз динаміки вмісту основних нутрієнтів у наупліях артемії при насиченні даним препаратом засвідчив спільні тенденції з попереднім експериментом (рис. 6.1.10).

Проведення процедури біоінкапсуляції поліненасичених жирних кислот в тіло науплій, забезпечує не лише підвищення вмісту даних есенціальних речовин (табл. 6.1.3), але й забезпечує підвищення вмісту загальних ліпідів. Відомо, що виснаження ліпідних резервів призводить до перелаштування метаболізму з утилізації з ліпідів на утилізацію білків [141].

Серед запропонованих схем біоінкапсуляції найбільш ефективним виявилось одноразове внесення в середовище препарату в дозі 0,9 г/л. При цьому науплії нагромаджували максимальну кількість загальних ліпідів, а їх жирнокислотний профіль характеризувався найбільшою сумарною часткою поліненасичених жирних кислот. Проте, з огляду на збереження протеїнів протягом проведення процедури збагачення, заслуговує уваги 4

група, яка отримувала препарат в два етапи по 0,6 мг/л. При цьому, частка ПНЖК в тілі науплій даної групи була не набагато нижчою, ніж в другій дослідній групі (табл. 6.1.3).

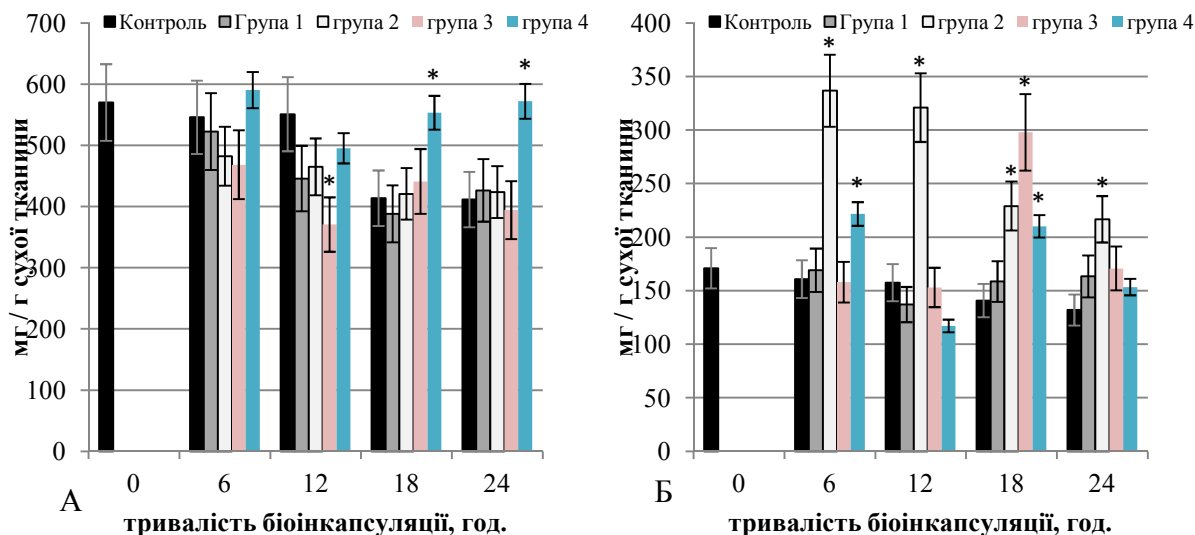


Рис. 6.1.10. Динаміка вмісту загальних білків (А) та ліпідів (Б) у наупліях артемії при насиченні різними кількостями ПНЖК-вмісного препарату 2, $M \pm m$, $n=6$

* різниця з контрольною групою статистично достовірна при $p \leq 0,05$.

Аналіз жирнокислотного профілю науплій при збагаченні ПНЖК-вмісним препаратом 2 не виявив різниці у співвідношенні основних груп жирних кислот, порівняно з контролем, окрім 2-ої групи, де вміст НЖК достовірно відрізнявся від інших груп (табл. 6.1.3).

У складі насичених жирних кислот усіх груп науплій переважали пальмітинова, стеаринова та арахінова кислоти. Серед мононенасичених жирних кислот найбільша частка належала олеїновій та пальмітоолеїновій кислотам, а серед поліненасичених жирних кислот переважала ліноленова, лінолева кислоти, а також ейкозапентаєнова та докозагексаєновакислоти ω -3 ненасичені жирні кислоти. Майже незмінним залишилося відношення ω -3 до ω -6 поліненасичених жирних кислот.

Незважаючи на стабільність загального фракційного складу поліненасичених кислот, насичення артемії препаратом сприяло підвищенню вмісту ω -3 ПНЖК – ДГК та ЕПК, вміст яких корелював з кількістю внесеної емульсії.

Таблиця 6.1.3

Вплив 24-годинної біоінкапсуляції ПНЖК-вмісним препаратом 2 на жирнокислотний профіль науплій артемії

Жирні кислоти		Частка жирних кислот від загального вмісту, %						
		Препарат	після вилупле ння	без насичення	Експериментальні групи			
					1	2	3	4
Enanthic	C7:0			0.022± 0.0014		0.026± 0.0011	0.004± 0.0002 ²	0.014± 0.0010 ²
Caprylic	C8:0	0.007± 0.0003	0.046± 0.0018	0.046± 0.0029	0.052± 0.0020 ^{1,2}	0.066± 0.0041 ^{1,2}	0.042± 0.0020	0.027± 0.0016 ^{1,2}
Pelargonic	C9:0	0.031± 0.0014		0.005± 0.0003	0.004± 0.0002	0.005± 0.0002	0.011± 0.0007 ²	0.003± 0.0001 ²
Caprinic	C10:0	0.057± 0.0034	0.013± 0.0010	0.013± 0.0005	0.008± 0.0004 ^{1,2}	0.008± 0.0002 ^{1,2}	0.006± 0.0004 ^{1,2}	0.009± 0.0004 ^{1,2}
Isolauric	Ci12:0		0.043± 0.0025	0.026± 0.0013 ¹	0.023± 0.0012 ^{1,2}	0.011± 0.0007 ^{1,2}	0.011± 0.0006 ^{1,2}	0.019± 0.006 ^{1,2}
Lauric	C12:0	0.049± 0.0019	0.074± 0.0024	0.057± 0.0018 ¹	0.047± 0.0027 ^{1,2}	0.045± 0.0027 ^{1,2}	0.052± 0.0023 ^{1,2}	0.050± 0.0031 ^{1,2}
Tridecylic	C13:0	0.040± 0.0023	0.017± 0.0007	0.014± 0.0007 ¹	0.015± 0.0005 ¹	0.015± 0.0009 ¹	0.023± 0.0015 ^{1,2}	0.014± 0.0005 ¹
Isomyristic	Ci14:0	0.019± 0.0006	0.143± 0.0070	0.109± 0.0055 ¹	0.101± 0.0026 ¹	0.080± 0.0033 ^{1,2}	0.074± 0.0024 ^{1,2}	0.101± 0.0060 ¹
Myristic	C14:0	4.696± 0.1527	1.031± 0.0525	0.892± 0.0498 ¹	1.072± 0.0252 ²	1.133± 0.0333 ^{1,2}	2.816± 0.1996 ^{1,2}	1.036± 0.0389 ¹
Pentadecanoic	C15:0	0.250± 0.0100	1.324± 0.0677	1.032± 0.0555 ¹	1.007± 0.0568 ¹	0.686± 0.0528 ^{1,2}	0.696± 0.0389 ^{1,2}	0.967± 0.0598 ¹
Isopalmitic	Ci16:0	0.110± 0.0071	0.838± 0.0292	0.705± 0.0265 ¹	0.681± 0.0422 ¹	0.512± 0.0287 ^{1,2}	0.463± 0.0265 ^{1,2}	0.648± 0.0259 ^{1,2}
Palmitic	C16:0	16.635± 1.0833	13.797± 0.9251	14.013± 1.0574	14.457± 1.1424	11.860± 0.9448	14.791± 0.9154	13.902± 0.9451
Margaric	C17:0	1.530± 0.0580	1.016± 0.0584	0.886± 0.0287	0.921± 0.0534	0.819± 0.0170 ^{1,2}	1.172± 0.0708 ^{1,2}	0.875± 0.0410
Isostearic	Ci18:0		1.073± 0.0621	0.663± 0.0235 ¹	0.654± 0.0523 ¹	0.357± 0.0163 ^{1,2}	0.290± 0.0182 ^{1,2}	0.563± 0.0325 ^{1,2}
Stearic	C18:0	4.052± 0.1673	5.820± 0.3201	5.521± 0.2492	5.348± 0.2054	4.330± 0.1240 ^{1,2}	5.155± 0.2760	5.250± 0.2854
Arachidic	C20:0	2.108± 0.0711	6.280± 0.2186	5.365± 0.1950 ¹	5.195± 0.2920 ¹	3.803± 0.1709 ^{1,2}	3.478± 0.2442 ^{1,2}	4.818± 0.2125 ^{1,2}
Heneicosylic	C21:0	0.271± 0.0129	0.256± 0.0106	0.250± 0.0122	0.222± 0.0125	0.169± 0.0103 ^{1,2}	0.248± 0.0139	0.229± 0.0112
Behenic	C22:0	0.412± 0.0133	0.864± 0.0556	0.880± 0.0380	0.863± 0.0606	0.777± 0.0459 ²	0.678± 0.0397 ^{1,2}	0.731± 0.0273 ^{1,2}
Σ SFA		30.266	30.266	32.635	30.500	30.670	24.701	30.011

продовження таблиці 6.1.3

Lauricoleic	C12:1		0.034± 0.0016	0.024± 0.0015 ¹	0.022± 0.0009 ¹	0.015± 0.0010 ^{1,2}	0.014± 0.0007 ^{1,2}	0.024± 0.0014 ¹
Myristoleic	C14:1		0.364± 0.0244	0.272± 0.0147 ¹	0.285± 0.0180 ¹	0.216± 0.0101 ^{1,2}		0.269± 0.0151 ¹
Pentadecenoic	C15:1	0.662± 0.0328	0.210± 0.0116	0.135± 0.0066 ¹	0.190± 0.0109 ²	0.170± 0.0109 ^{1,2}	0.424± 0.0128 ^{1,2}	0.194± 0.0088 ²
Palmitoleic	C16:1	6.682± 0.3293	5.836± 0.3955	4.829± 0.2545 ¹	4.931± 0.1631 ¹	4.497± 0.1938 ¹	5.488± 0.2507 ²	4.626± 0.2513 ¹
Heptadecenoic	C17:1	0.934± 0.0252	2.086± 0.0908	1.670± 0.0738 ¹	1.606± 0.0986 ¹	1.340± 0.0651 ^{1,2}	1.234± 0.0604 ^{1,2}	1.529± 0.0790 ¹
Oleic	C18:1	17.493± 1.2034	20.758± 1.3550	23.481± 1.7478	22.738± 1.6865	26.739± 1.8066 ¹	19.054± 1.1618 ²	23.969± 1.8163
Gadoleic	C20:1	4.393± 0.2379	0.770± 0.0482	0.768± 0.0517	0.932± 0.0530 ^{1,2}	1.084± 0.0654 ^{1,2}	2.514± 0.1411 ^{1,2}	0.891± 0.0472 ^{1,2}
Erucic	C22:1 ω-9	5.160± 0.2975	3.237± 0.1847	3.055± 0.1025	3.745± 0.1964 ^{1,2}	0.455± 0.0297 ^{1,2}	2.281± 0.1455 ^{1,2}	0.388± 0.0178 ^{1,2}
Σ MUFA		35.323	35.323	33.294	34.233	34.449	34.517	31.009
Hexadecanoic	C16:2 ω-6	0.255± 0.0107	1.762± 0.0853	1.523± 0.0923 ¹	1.370± 0.0990 ^{1,2}	1.106± 0.0700 ^{1,2}	0.998± 0.0670 ^{1,2}	1.321± 0.0470 ^{1,2}
Linoleic	C18:2 ω-6	4.829± 0.2881	9.790± 0.4107	8.396± 0.5450 ¹	8.195± 0.5855 ¹	6.783± 0.3977 ^{1,2}	7.570± 0.5341 ¹	7.901± 0.3238 ¹
Linolenic	C18:3 ω-3	1.381± 0.0497	18.978± 1.0894	21.801± 1.5058	20.622± 1.4192	23.749± 1.5173 ¹	14.940± 1.2893 ^{1,2}	21.659± 1.6736
Eicosatrienoic	C20:3 ω-6	0.188± 0.0109			0.015± 0.0010		0.041± 0.0012	0.028± 0.0014
Arachidonic	C20:4 ω-6	1.445± 0.0664	1.763± 0.1125	1.928± 0.1187	1.663± 0.1170 ²	1.802± 0.1440	1.769± 0.1160	1.758± 0.0787
Eicosa- pentaenoic	C20:5 ω-3	7.293± 0.5779	3.237± 0.1681	3.055± 0.1661	3.745± 0.2766 ^{1,2}	3.929± 0.2017 ^{1,2}	5.188± 0.2158 ^{1,2}	3.407± 0.1375 ²
Docosa- dienoic	C22:2 ω-6	0.018± 0.0009	0.091± 0.0056	0.129± 0.0066 ¹	0.100± 0.0022 ²	0.121± 0.0039 ¹	0.054± 0.0030 ^{1,2}	0.071± 0.0044 ^{1,2}
Docosa- trienoic	C22:3 ω-3	0.462± 0.0211					0.140± 0.0093	0.014± 0.0005
Docosa- tetraenoic	C22:4 ω-6	0.074± 0.0030	0.298± 0.0143	0.273± 0.0174	0.276± 0.0165	0.128± 0.0063 ^{1,2}	0.178± 0.0082 ^{1,2}	0.210± 0.0124 ^{1,2}
Docosa- pentaenoic	C22:5 ω-3					0.044± 0.0026		
Docosa- hexaenoic	C22:6 ω-3	17.643± 1.0852	0.059± 0.0033	0.210± 0.0104 ¹	1.280± 0.0579 ^{1,2}	2.083± 0.1200 ^{1,2}	6.465± 0.2921 ^{1,2}	1.402± 0.0820 ^{1,2}
Σ PUFA		33.588	35.979	37.316	37.266	39.744	37.343	37.772
Σ ω-3		26.780	22.274	25.066	25.647	29.805	26.732	26.483
Σ ω-6		6.808	13.705	12.250	11.619	9.939	10.611	11.289
ω-3 / ω-6		3.93	1.63	2.05	2.21	3.00	2.52	2.35
DHA / EPA		2.42	0.02	0.07	0.34	0.53	1.25	0.41

* різниця порівняно з контрольною групою статистично достовірна при $p \leq 0,05$

Кількісний вміст ЕПК у науплях, які щойно вилупились, залежить від солоності середовища, в якому перебували материнські особини, зокрема, чим вища солоність, тим більший вміст ейкозапентаєнової кислоти у цистах та науплях [223, 291]. У рибоводній практиці часто

можна стикнутись із ситуацією, при якій отримані науплії є дефіцитними на ЕПК. Використання такої артемії, як стартового живого корму може негативно відобразитись на якості та виживаності отриманого рибопосадкового матеріалу. Відповідно, необхідним є вхідний контроль нутрієнтного складу партії закуплених цист, а в разі виявлених відхилень – здійснення його корекції, зокрема, з використанням препаратів з підвищеним вмістом ейкозапентаєнової кислоти.

Аналіз впливу процедури біоінкапсуляції препарату з фортифікованим вмістом ЕПК на формування рівня загальної протеолітичної активності у кормових організмів засвідчив відсутність її пригнічення в науплій 1-ї дослідної групи (табл. 6.1.4).

Таблиця 6.1.4

Динаміка загальної протеолітичної активності при різних рН у артемії в процесі біоінкапсуляції ПНЖК-вмісним препаратом 2, нмоль
Tyr/xв×мг білка

	рН	Після вилуплення	Тривалість біоінкапсуляції, години			
			6	12	18	24
контроль	4,8	0,63±0,08	6,23±0,72	4,18±0,98	2,46±0,96	1,49±0,38
	7,4	2,51±0,37	7,31±0,81	19,76±2,01	5,75±5,79	55,55±5,14
	9,0	6,53±0,57	7,31±0,78	8,84±0,91	205,11±23,41	266,40±27,85
група 1	4,8	0,63±0,08	0,77±0,08*	0,44±0,06*	1,14±0,18*	0,93±0,09*
	7,4	2,51±0,37	3,09±0,34*	9,04±0,78*	25,03±3,01*	17,02±1,85*
	9,0	6,53±0,57	5,74±0,56	894,22±90,3*	1051,8±112,5*	1102,8±150,7*
група 2	4,8	0,63±0,08	0,24±0,03	0,45±0,04	0,39±0,04	0,73±0,08
	7,4	2,51±0,37	7,57±0,81	6,85±0,71	11,42±1,52	35,96±5,53
	9,0	6,53±0,57	3,91±0,41	5,36±0,49	163,54±17,08*	126,49±12,56
група 3	4,8	0,63±0,08	0,74±0,07	0,64±0,07	1,32±0,19	0,37±0,04
	7,4	2,51±0,37	1,18±0,21	3,86±0,41	4,71±0,48	5,48±0,45
	9,0	6,53±0,57	4,14±0,45	1,93±0,21	321,38±31,8	105,05±11,3*
група 4	4,8	0,63±0,08	0,45±0,05	0,84±0,08	0,63±0,05	0,28±0,03
	7,4	2,51±0,37	21,01±2,62	6,61±5,58	22,91±2,31	26,30±2,65
	9,0	6,53±0,57	144,23±15,12	147,53±15,01	126,84±13,12	159,37±16,14*

* різниця з контролем достовірна при $p \leq 0,05$

Як вже було вказано, протеолітична активність у науплій найвища при лужних рН [199], що узгоджується з нашими результатами, отриманими раніше. Зростанням протеазної активності може бути

пояснено зниження вмісту білків, як субстрату даних ферментів, у науплій протягом досліджуваного періоду [284]. В інших групах науплій (табл. 6.1.4) загальна протеолітична активність вірогідно не відрізнялася від контрольних значень і її пік припадав на 18-24-ту годину проведеного досліді (табл. 6.1.4).

Оскільки для підвищення вмісту поліненасичених жирних кислот в живих кормах використовуються не їх очищені препарати, а ліпідні комплекси (олії), отримані з водоростевої біомаси, риб'ячого жиру, крилевого масла тощо, посилення ліполітичної активності варто розглядати як позитивний ефект, який сприяє підвищенню біодоступності цільових ПНЖК. Як відомо, ліпази артемії разом з іншими ферментами беруть участь у формуванні ензиматичного фону травного тракту личинок риб [200].

Застосування для біоінкапсуляції артемії більших доз препарату також сприяло підвищенню ліпазної активності, хоча різниця з контролем не завжди була достовірною. Загалом, ліполітична активність у артемії всіх досліджуваних груп характеризується однаковими тенденціями з подібними значення по завершенню біоінкапсуляції (рис. 6.1.11, А).

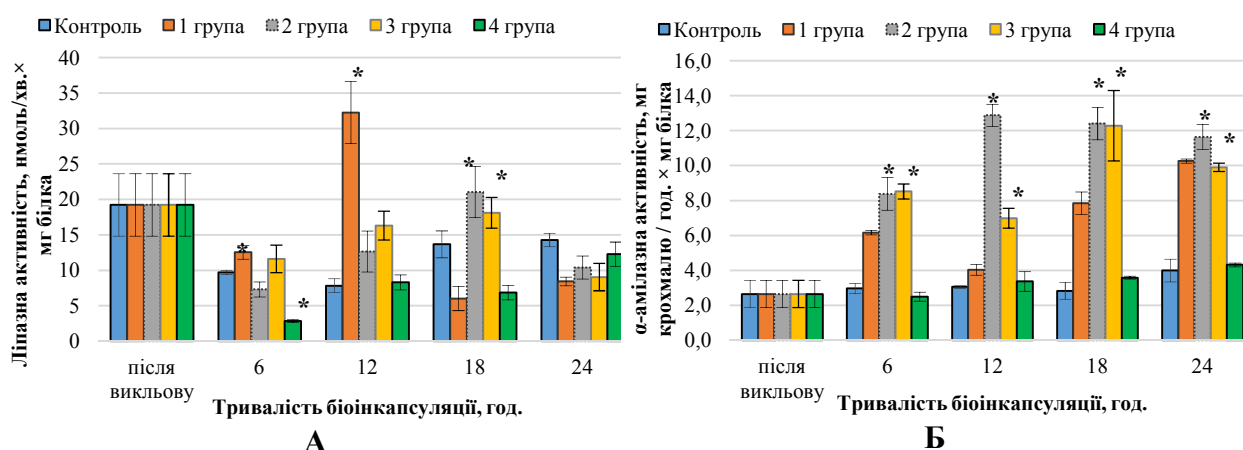


Рис. 6.1.11. Ліпазна (А) та α -амілазна (Б) активність у науплій *Artemia* при біоінкапсуляції ПНЖК-вмісним препаратом 2 за різними схемами

* відмінності, в порівнянні з контрольною групою, статистично вірогідні при $p \leq 0,05$.

Також під час біоінкапсуляції істотно зростала α -амілазна активність у всіх експериментальних групах артемії при її незмінній динаміці у науплій контрольної групи, (рис. 6.1.11, Б). Варто зазначити, що амілолітична активність була вищою у групах, яким вносили більші дози препарату під час процедури біоінкапсуляції.

Отже, враховуючи показники вмісту загальних білків, ліпідів та накопичення $\omega 3$ поліненасичених жирних кислот наупліями артемії, біоінкапсуляцію останніх слід проводити за 2-схемою із застосуванням ПНЖК-вмісного препарату в дозі 0,9 г/л. Проте, при застосуванні препарату у дозі 0,6г/л – схема 1 спостерігається підвищення гідролітичної активності кормових організмів, що позитивно впливає на формування загального ензиматичного фону травного тракту личинок риб.

Відповідно, було проаналізовано динаміку показників смертності науплій при біоінкапсуляції жирними кислотами за різних схем з використанням вище вказаного ПНЖК-вмісного препарату 2.

Показано, що однократне внесення препарату у дозі 0,6 г/л не викликає зростання смертності кормових організмів (табл. 6.1.5).

Навпаки, збагачення науплій досліджуваним препаратом у дозах 0,9 і 0,6 г/л при двократному внесенні емульсії ПНЖК супроводжується найвищими показниками смертності – біля 25% артемії гине станом на 24-ту годину експерименту. Очевидно, що за таких умов емульсія не встигає швидко поглинутись артемією, через що проходить окислення жирних кислот киснем із накопиченням токсичних продуктів ПОЛ [353].

Внесення препарату у дозі 1,2г/л хоч і не призводить до збільшення рівня смертності, проте її показник вищий, ніж при однократному внесенні препарату в кількості 0,6 г/л. У контрольній групі чітко прослідковується тенденція до підвищення частки мертвих особин, при чому даний показник на кінець експерименту досягає одного з максимальних значень.

Таблиця 6.1.5

**Індекс кумулятивної смертності (%) науплій *Artemia* при різних
схемах збагачення препаратом поліненасичених жирних кислот**

Дослідні групи	Доза препарату, г/л	Після виходу з цист	Тривалість біоінкапсуляції, год.			
			6	12	18	24
1	0,6	10,83±0,38	10,40±0,39	10,38±0,36*	10,65±0,47	10,48±0,45*
2	0,9		11,97±0,31*	12,72±0,48*	13,72±0,27*	15,73±0,64*
3	1,2		13,26±0,53*	13,26±0,42*	12,39±0,26*	12,57±0,23
4	0,3+0,3		10,48±0,46	10,55±0,36*	11,91±0,44	14,52±0,71*
Контроль	без збагачення		8,40±0,23	8,45±0,33	10,31±0,08	12,49±0,23

* відмінність порівняно з контрольною групою статистично достовірна при $p \leq 0,05$.

Як і з попереднім препаратом, була проведена перевірка впливу біоінкапсуляції досліджуваного препарату на лінійні розміри науплій. Аналіз отриманих результатів засвідчив відсутність достовірних змін в лінійних розмірах науплій артемії при їх збагаченні препаратом з підвищеним вмістом ейкозапентаєнової кислоти (рис. 6.1.12).

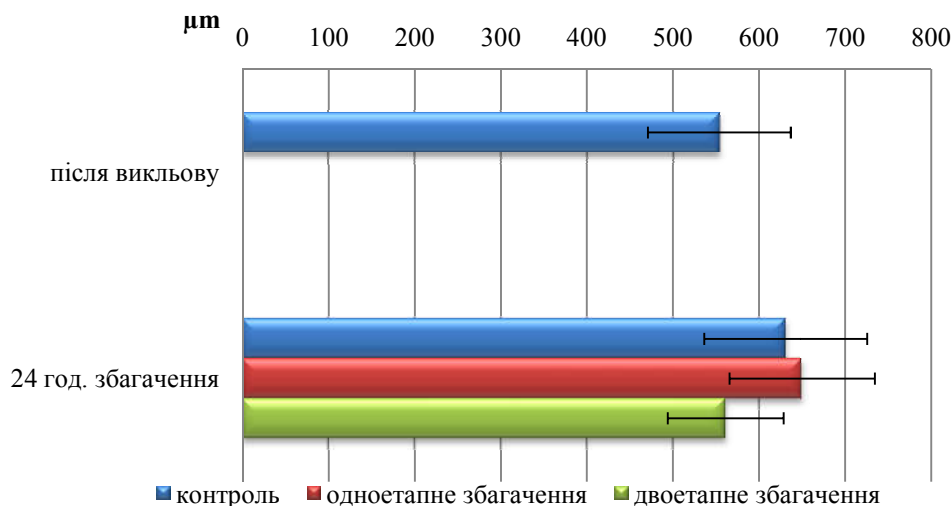


Рис. 6.1.12. Зміна лінійних розмірів науплій артемії протягом їх біоінкапсуляції ПНЖК-вмісним препаратом 2

Високий рівень смертності науплій під час біоінкапсуляції при використанні найбільших доз досліджуваного препарату зумовлена

накопиченням продуктів пероксидного окиснення ліпідів, зокрема, ТБК-активних продуктів (рис. 6.1.13).

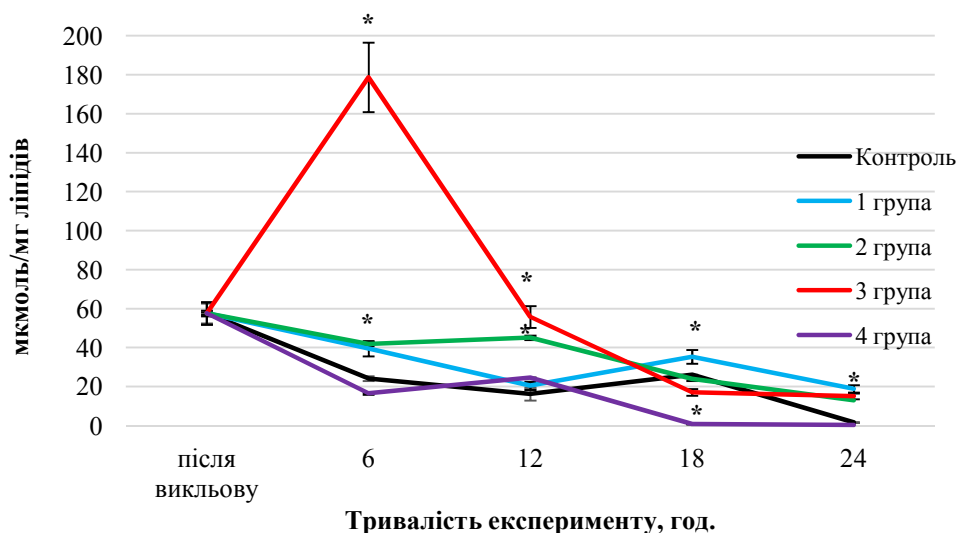


Рис. 6.1.13. Динаміка вмісту ТБК-активних продуктів в артемії під час різних схем біоінкапсуляції ПНЖК-вмісним препаратом 2

* різниця з контролем статистично достовірна при $p \leq 0,05$.

Таким чином, біоінкапсуляція у науплії артемії ПНЖК-вмісного препарату з підвищеним вмістом ейкозапентаєнової кислоти шляхом його однократного введення з розрахунку 0,6 г на 1л середовища супроводжується найнижчими значеннями показників смертності кормових організмів та накопиченням цільових ПНЖК в їх тілі.

Враховуючи утилізацію кормовими організмами основних нутрієнтів під час процедури їх насичення цільовими продуктами, неважко передбачити втрату поживної цінності живих кормів протягом перебування в автоматичних годівницях, з яких науплії подаються у рибоводні басейни. Проте, насичена ПНЖК артемія повільно втрачає свою поживну (рис. 6.1.14, А). Швидкість зниження вмісту нутрієнтів залежить, у першу чергу, від температури оточуючого середовища [184] і може бути сповільнена при утримуванні науплій артемії при відносно низьких температурах. Це дозволяє призупинити ростові процеси, а, отже, втрату

ними поживних речовин [149].

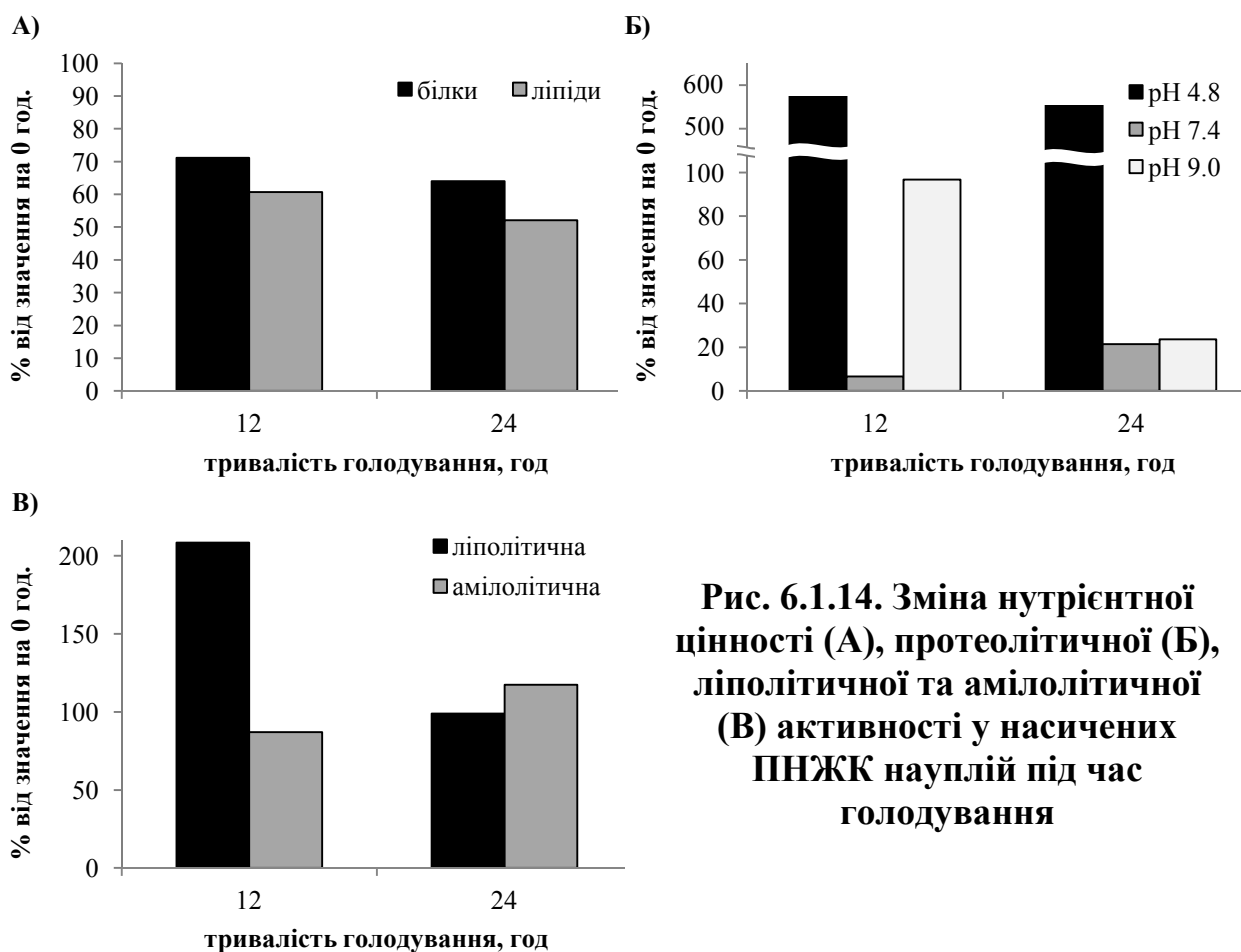


Рис. 6.1.14. Зміна нутрієнтної цінності (А), протеолітичної (Б), ліполітичної та амілолітичної (В) активності у насичених ПНЖК науплій під час голодування

Голодування насиченої ПНЖК артемії супроводжується зниженням протеазної активності (рис. 6.1.14, Б), що пояснюється відсутністю надходження в організм відповідного субстрату для цих ферментів. Подібна тенденція характерна і для ліполітичної та α -амілазної активності (рис. 6.1.14, В).

Отже, згідно результатів проведених досліджень, використання ПНЖК-вмісного препарату з співвідношенням ДГК/ЕПК=2,5 для збагачення науплій артемії ω -3 поліненасиченими жирними кислотами є ефективним при одноетапному внесенні у дозі 0,6 г/л, що супроводжується найнижчим показником смертності кормових організмів, їх оптимальними розмірними характеристиками, а також найвищими показниками гідролітичної ензиматичної активності.

6.1.2. Вплив збагаченої поліненасиченими кислотами артемії на личинок осетрових риб

Для зменшення втрат та підвищення виживаності личинок слід використовувати збалансований стартовий живий корм, нутрієнтну цінність якого можна вдосконалювати за допомогою технології біоінкапсуляції. Проведені дослідження засвідчили подібні тенденції в динаміці смертності личинок гостроногого осетра *Acipenser oxyrinchus*, які вигодовувались як на нативній, так і на збагаченій поліненасиченими жирними кислотами артемії (рис. 6.1.15). Показано, що підвищена смертність спостерігалася протягом перших 10 діб підгодовування. В обох досліджуваних групах найвища смертність припадає на 5 добу.

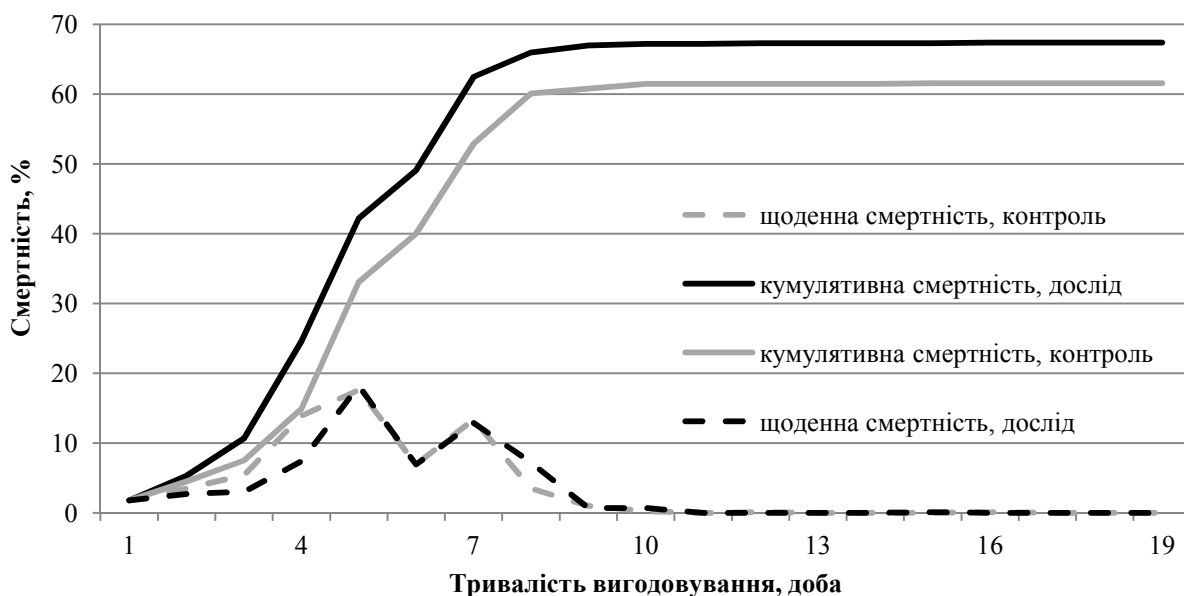


Рис. 6.1.15. Динаміка показників смертності личинок гостроногого осетра *A. oxyrinchus*, вигодовуваних на насиченій і нативній артемії

За весь період експериментального вигодовування вища виживаність була притаманна для осетрів, які отримували насичену ПНЖК артемію. Остаточне значення виживаності в осетрів, які вигодовувалися збагаченою ПНЖК артемією, було вище на 10,6%. Незважаючи на те, що одержана різниця не має статистичної достовірності, можна говорити про позитивну

тенденцію.

Недосконалість травної системи личинок в ранній період онтогенезу, зокрема функціональна незрілість шлунку, є провідною причиною масової загибелі молоді риб на цьому етапі. Критичність даного періоду зумовлена наступними причинами:

- завершується органогенез, що визначався внутрішніми ресурсами, і починають проявляються дефекти розвитку, які перешкоджають переходу личинок на активне живлення;
- змінюється фізіологічний стан, що за несприятливих умов може стати критичною ланкою на даному етапі [123].

В обох досліджуваних групах максимальний відсоток смертності відмічено на 5 добу. Слід зазначити, що саме в цей період тип живлення личинок є змішаним, при цьому використовуються поживні речовини як з жовткового мішка, так і ті, що отримуються з кормом. Великий відхід личинок, що харчувалися як збагаченою, так і незбагаченою артемією, вказує на спільні труднощі при переході на екзогенне живлення.

Як було вказано вище, передличинки, які лише виклюнулися, на початковому етапі свого розвитку живляться лише за рахунок вмісту жовткового мішка. Після повного його розсмоктування починається перехід на активне живлення, який припадає на 8-10 добу після викльову. Середня довжина личинок осетра у цей період становить 18,6-19,9 мм.

По мірі росту личинок кількість доступних їм за розміром кормових організмів зростає [124]. Ймовірно, саме тому, від 11-ої доби вигодовування як на збагаченій, так і на незбагаченій артемії, смертність наближалась до нуля. Це свідчить про остаточний перехід личинок осетрів на екзогенне живлення.

Застосування збагаченої артемії проявляється у прискоренні масонакопичення личинками атлантичного осетра. Зокрема, нами

встановлено, що найвищий відносний приріст маси відмічався на 19-ту добу від початку вигодовування (рис. 6.1.15).

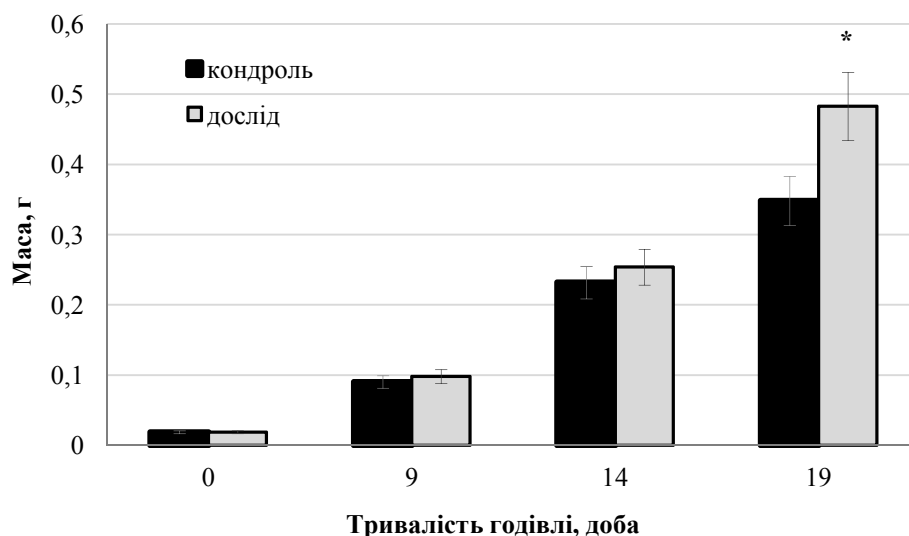


Рис. 6.1.16. Накопичення маси личинками *Acipenser oxyrinchus* при вигодовуванні контрольними та насиченоними ПНЖК наупліями

** різниця між групами статистично достовірна при $p \leq 0,05$.*

Слід зауважити, що різниця в масонакопиченні між двома досліджуваними групами личинок осетрів проявляється лише з другого тижня вигодовування.

На кінцевому етапі експерименту маса личинок, що отримували збагачену артемію, була в 1,5 рази вищою, ніж маса молоді риб контрольної групи.

Таким чином, технологія біоінкапсуляції есенціальними жирними кислотами стартових живих кормів при вирощуванні *Acipenser oxyrinchus* не впливає виживаність ранньої молоді, проте сприяє збільшенню маси личинок у 1,5 рази.

Вигодовування личинок атлантичного осетра збагаченою артемією не супроводжувалось суттєвими змінами порівняно з контрольною групою вмісту основних нутрієнтів – білків та ліпідів протягом основного періоду експерименту (рис. 6.1.17).

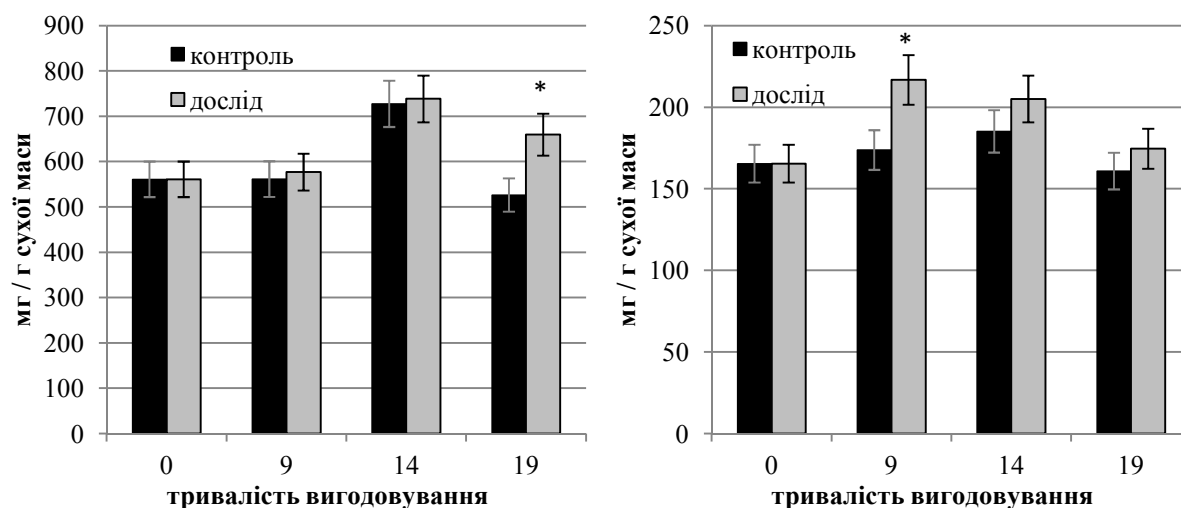


Рис. 6.1.17. Динаміка вмісту загальних білків та ліпідів у тілі личинок *Acipenser oxyrinchus* при вигодовуванні нативною та збагаченою ПНЖК артемією, $M \pm m$, $n=6$

* різниця з контрольною групою статистично достовірна при $p \leq 0,05$.

Оскільки добова норма науплій артемії подавалась личинкам осетрів порційно, ймовірно, що голодуюча артемія частково втрачала свою поживну цінність [184], внаслідок чого личинки осетра в неповній мірі могли бути забезпеченими необхідними нутрієнтами.

Проте, на кінцевому етапі експерименту (19-а доба вигодовування збагаченою артемією) спостерігалось достовірне зростання вмісту загальних протеїнів. Одержані результати спонукали до дослідження на даному етапі амінокислотного складу личинок дослідної та контрольної груп.

Проте, порівняння амінокислотного профілю личинок осетрів, вигодовуваних на нативній та збагаченій артемії, не показало достовірної різниці у відсотковій частці амінокислот (рис. 6.1.18).

Показано, що вигодовування личинок осетрових риб, зокрема сибірського осетра, артемією, насиченою різними препаратами поліненасичених жирних кислот, не призводить до збільшення вмісту загальних ліпідів. Результати проведених нами досліджень підтвердили,

що застосування при вигодовуванні личинок атлантичного осетра науплій артемії, збагачених препаратом ПНЖК, не призводить до істотних змін кількості основних нутрієнтів.

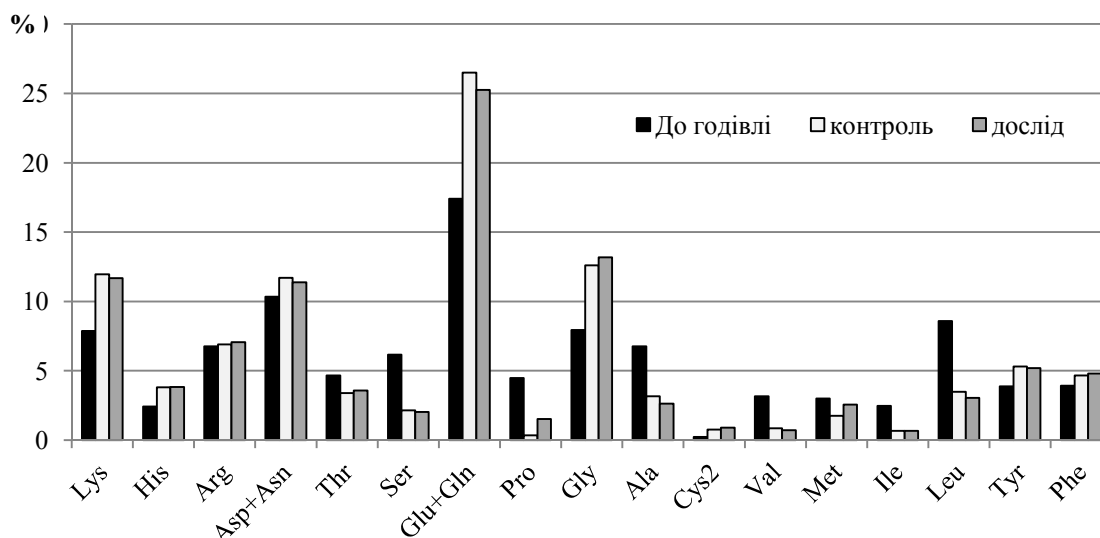


Рис. 6.1.18. Амінокислотний профіль личинок *Acipenser oxyrinchus* при вигодовуванні нативною та збагаченою артемією, $M \pm m$, $n=3$

Проте, на тлі стабільності вмісту загальних ліпідів нами встановлено перерозподіл різних груп жирних кислот. В основному, даний факт відмічений для ненасичених жирних кислот (табл. 6.1.6).

На кінцевому етапі експерименту нами було відмічено зниження відсоткової частки мононенасичених жирних кислот з 35,4% до 30,9% від загальної маси жирних кислот та зростання частки поліненасичених жирних кислот у групі, що в якості корму одержувала збагачену артемію (табл. 6.1.6). Частка насичених жирних кислот у всіх дослідних групах була практично незмінною і коливалась в межах 30% від загальної маси жирних кислот.

До переходу на зовнішнє живлення у жирнокислотному складі личинок *Acipenser oxyrinchus* переважали олеїнова кислота (28%), пальмітинова (21%) та докозагексаєнова (16%).

Після 19 діб годівлі личинок риб збагаченою артемією частка олеїнової кислоти була найвищою, але й вміст ліноленової кислоти значно зріс (з 1,4% до більш ніж 20%), що пов'язано з її значним вмістом (близько 30%) у наупліях артемії. Рівень ейкозапентаєнової та докозагексаєнової кислот у личинок атлантичного осетра, що вигодовувалися збагаченою артемією, був у 1,7 рази та 3 рази вищим, відповідно, ніж у личинок, що отримували незбагачену артемію.

Таблиця 6.1.6

**Жирнокислотний склад та вміст окремих ПНЖК личинок
атлантичного осетра *Acipenser oxyrinchus*, M±m**

№	Жирні кислоти		Частка в жирнокислотному профілі, %		
			до годівлі	після годівлі нативною артемією	після годівлі насиченою артемією
Насичені жирні кислоти					
1	Капронова	C6:0	0,221±0,018 ^{2,3}	0,836±0,061 ¹	0,999±0,105 ¹
2	Енантова	C7:0	0,027±0,002 ²	0,012±0,001 ^{1,3}	0,036±0,003 ²
3	Каприлова	C8:0	0,864±0,081 ^{2,3}	1,259±0,122 ^{1,3}	1,994±0,191 ^{1,2}
4	Пеларгонова	C9:0	0,107±0,009 ³	-	0,010±0,001 ¹
5	Капринова	C10:0	0,076±0,005	0,089±0,009	0,083±0,009
6	Ундецилова	C11:0	0,061±0,006 ^{2,3}	0,159±0,012 ¹	0,123±0,012 ¹
7	Ізолауринова	Ci12:0	0,067±0,006	0,062±0,006	0,049±0,005
8	Лауринова	C12:0	0,025±0,002 ^{2,3}	0,010±0,001 ^{1,3}	0,015±0,001 ^{1,2}
9	Ізоміристинова	Ci14:0	-	0,012±0,001	0,015±0,002
10	Міристинова	C14:0	1,530±0,154 ^{2,3}	0,598±0,058 ¹	0,754±0,072 ¹
11	Пентадеканова	C15:0	0,204±0,016 ^{2,3}	0,103±0,007 ¹	0,099±0,009 ¹
12	Ізопальмітинова	Ci16:0	0,178±0,017 ^{2,3}	0,644±0,054 ¹	0,536±0,050 ¹
13	Пальмітинова	C16:0	20,709±1,878 ^{2,3}	11,299±0,976 ¹	12,251±1,267 ¹
14	Маргарінова	C17:0	0,550±0,046	0,741±0,059	0,773±0,076
15	Ізостеаринова	Ci18:0	-	0,229±0,022	0,255±0,021
16	Стеаринова	C18:0	4,296±0,382	4,004±0,320	4,586±0,435
17	Арахінова	C20:0	0,408±0,035 ^{2,3}	5,158±0,454 ¹	4,491±0,407 ¹
18	Генейкозанова	C21:0	0,278±0,027 ^{2,3}	0,496±0,049 ¹	0,465±0,043 ¹
19	Бегенова	C22:0	0,584±0,052 ^{2,3}	3,912±0,333 ^{1,3}	2,713±0,260 ^{1,2}

продовження таблиці 6.1.6

Мононенасичені жирні кислоти					
20	Лауролеїнова	C12:1	0,101±0,009	0,075±0,006	0,090±0,008
21	Міристоолеїнова	C14:1	0,092±0,009 ^{2,3}	0,796±0,065 ¹	0,640±0,066 ¹
22	Пентадеценова	C15:1	-	0,043±0,004	-
23	Пальмітоолеїнова	C16:1	4,667±0,470	4,004±0,333	3,959±0,354
24	Гептадеценова	C17:1	0,461±0,035 ^{2,3}	0,983±0,079 ¹	0,958±0,071 ¹
25	Олеїнова	C18:1	28,066±2,743	28,138±3,068	24,268±2,604
26	Гондова	C20:1	1,989±0,174 ^{2,3}	0,936±0,081 ¹	0,962±0,088 ¹
Поліненасичені жирні кислоти					
27	Тетрадекадієнова	C14:2	-	0,336±0,030	0,279±0,025
28	Гексадекадієнова	C16:2ω-6	-	0,876±0,083	0,791±0,066
29	Лінолева	C18:2 ω-6	6,884±0,677	5,104±0,451	6,532±0,651
30	Ліноленова	C18:3ω-3	1,411±0,134 ^{2,3}	21,294±2,151 ¹	20,263±2,110 ¹
31	Ейкозадієнова	C20:2 ω-6	-	0,225±0,021	0,195±0,016
32	Ейкозатрієнова	C20:3ω-6	0,256±0,023 ²	0,457±0,036 ^{1,3}	0,224±0,019 ²
33	Арахідонова	C20:4ω-6	2,463±0,219	2,898±0,236	2,630±0,261
34	Ейкозапентаєнова	C20:5 ω-3	5,167±0,405 ^{2,3}	1,631±0,120 ^{1,3}	2,732±0,279 ^{1,2}
35	Докозадієнова	C22:2ω-6	0,061±0,006 ^{2,3}	0,039±0,004 ¹	0,034±0,003 ¹
36	Докозатрієнова	C22:3ω-3	0,251±0,025 ³	-	0,065±0,006 ¹
37	Докозатетраєнова	C22:4 ω-6	0,176±0,018 ³	0,179±0,016 ³	0,258±0,024 ^{1,2}
38	Докозапентаєнова	C22:5 ω-3	1,495±0,141 ^{2,3}	0,615±0,067 ^{1,3}	0,860±0,072 ^{1,2}
39	Докозагексаєнова	C22:6ω-3	16,123±1,727 ^{2,3}	1,172±0,112 ^{1,3}	3,321±0,319 ^{1,2}

¹ різниця з личинками осетра до годівлі статистично достовірна при $p \leq 0,05$;

² різниця личинками осетра після годівлі неінкапсульованою артемією, статистично достовірна при $p \leq 0,05$;

³ різниця личинками осетра після годівлі збагаченою артемією, статистично достовірна при $p \leq 0,05$.

У риб на ранніх етапах онтогенезу основним енергетичним субстратом є мононенасичені жирні кислоти, зокрема олеїнова кислота. Відповідно, інтенсифікація ростових процесів, яку спостерігали в личинок атлантичного осетра з дослідної групи, супроводжується зниженням частки МНЖК. Натомість, частка зазначених жирних кислот в тілі личинок контрольної групи залишалась на вихідному рівні.

В організмі риб важливу фізіологічну роль відіграють докозагексаєнова та ейкозапентаєнова полі ненасичені жирні кислоти [186]. Так, ЕПК є попередником ейкозаноїдів з широким спектром біологічної дії, разом з докозагексаєновою ейкозапентаєнова бере участь у транспорті і метаболізмі холестеролу [33, 240]. ДГК відіграє важливу роль у складі мембранних фосфоліпідів, забезпечуючи необхідне значення їх в'язкості, а також бере участь у підтриманні правильної роботи мембранних рецепторів [183; 310]. Значна кількість ДГК запасється у вигляді фосфогліцеридів нервової тканини [287]. Саме з вагомим значення ДГК та ЕПК в організмі личинок пов'язане стрімке зниження їх частки в жирнокислотному профілі особин контрольної групи за час експериментального вирощування. Застосування фортефікованої ДГК та ЕПК артемії як стартового живого корму дозволяє усунути дефіцит зазначених кислот в раціоні, що дозволяє прискорити темпи росту (рис. 6.1.16).

Однією з особливостей ліпідного складу тканин водних організмів є переважання вмісту ω -3 над ω -6 жирними кислотами. У дослідних личинок співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК практично не змінилось у порівнянні з початковим значенням. У нормі вміст докозагексаєнної кислоти переважає вміст ейкозапентаєнної. Нами було відмічено, зменшення співвідношення ДГК/ЕПК у всіх групах у ході експерименту. Співвідношення ДГК/ЕПК у личинок *Acipenser oxyrinchus* до годівлі артемією становила 3,1, а в кінці експерименту при годівлі збагаченою та незбагаченою артемією – 1,2 та 0,7, відповідно.

Зауважимо, що у личинок гостроногого остера до годівлі відсутні такі ω -6 ПНЖК, як тетрадекадієнова, гексадекадієнова та ейкозадієнова, відповідно їх джерелом у досліджуваних риб є виключно артемія.

Із жирнокислотним профілем тканин безпосередньо пов'язані

функціональні властивості біологічних мембран, у тому числі транспортні властивості.

Аналіз мінерального складу тканин личинок показав значні відмінності у вмісті іонів Na^+ , Ca^{2+} , $\text{Fe}^{2+/3+}$ та Ni^{2+} між групами личинок до годівлі та після початку вигодовування артемією (табл. 6.1.7).

Таблиця 6.1.7

Вміст мінеральних елементів в тілі личинок *Acipenser oxyrinchus* при вигодовуванні артемією, біоінкапсульованою ПНЖК-вмісним препаратом 1, (мг/кг) $M \pm m$, n=6

Доба		Ca^{2+}	Na^+	K^+	$\text{Fe}^{2+/3+}$	Zn^{2+}	Ni^{2+}	Cu^{2+}
до годівлі		1135,4± 110,04	7982,9± 724,62	1021,4± 87,41	141,6± 13,89	66,4± 5,57	4,2± 0,38	15,6± 1,33
9 діб годівлі	нативною артемією	714,3± 71,42	3744,4± 394,31	894,5± 69,15	41,5± 3,32	31,7± 2,90	1,3± 0,12	6,4± 0,57
	збагаченою артемією	819,2± 80,99	4987,6± 562,82*	1915,8± 167,78*	40,4± 3,61	64,5± 5,23*	1,9± 0,20*	7,3± 0,71
14 діб годівлі	нативною артемією	976,9± 99,93	2229,2± 205,71	1044,1± 123,86	27,9± 2,97	сліди	1,1± 0,10	4,2± 0,36
	збагаченою артемією	576,7± 50,59*	3421,5± 293,03*	951,4± 85,77	35,3± 3,16	24,5± 2,23*	1,3± 0,10	10,6± 1,01*
19 діб годівлі	нативною артемією	648,9± 68,79	1876,4± 173,28	1013,8± 82,79	26,4± 1,99	20,1± 2,01	1,1± 0,12	12,2± 0,91
	збагаченою артемією	457,5± 38,49*	2678,7± 279,66*	1489,3± 139,60*	32,0± 2,85	24,9± 2,29	1,3± 0,13	5,4± 0,44*

*відмінності між дослідною та відповідною контрольною групами статистично достовірні при $p \leq 0,05$.

Вміст інших елементів на ключових етапах експерименту суттєво не змінювався. Окрім того, достовірної різниці у вмісті зазначених іонів між контрольною та дослідною групою личинок *Acipenser oxyrinchus* виявлено не було.

Надмірне надходження ліпідів із живими кормами може негативно впливати на процеси травлення у вирощуваних личинок риб. Однак, результати досліджень засвідчили, що застосування збагаченої поліненасиченими жирними кислотами артемії при вигодовуванні личинок

атлантичного осетра практично не впливає на загальну протеолітичну активність у них (табл. 6.1.8).

Таблиця 6.1.8

Динаміка гідролітичної активності у личинок *Acipenser oxyrinchus* при вигодовуванні біоінкапсульованою артемією

Гідролітична активність		Група	Доба вигодовування			
			0	9	14	19
Протеолітична, нмоль Туг/хв×мг білка	рН 4,8	контроль	4,1±0,4	4,4±0,5	1,6±0,1	3,8±0,4
		дослід	4,1±0,4	3,6±0,4	3,5±0,4*	2,7±0,3
	рН 7,4	контроль	1,5±0,2	43,4±4,4	18,8±1,8	34,8±3,5
		дослід	1,5±0,2	51,9±5,5*	25,7±2,6*	32,8±3,3
	рН 9,0	контроль	4,0±0,3	17,7±1,5	12,7±1,3	8,1±0,8
		дослід	4,0±0,4	16,7±1,7	13,4±1,4	8,0±0,9
Ліполітична, нммоль/хв×мг білка		контроль	2,8±0,3	4,5±0,5	3,2±0,3	1,5±0,2
		дослід	2,8±0,3	4,4±0,4	2,6±0,3	1,0±0,1
Амілолітична, мг крохмалю/хв×мг білка		контроль	4,0±0,4	2,6±0,3	2,3±0,2	11,3±1,2
		дослід	4,0±0,4	8,7±0,8*	2,5±0,3	12,5±1,2

* різниця порівняно з контролем статистично достовірна при $p \leq 0,05$

Подібна картина відмічена і стосовно загальної ліполітичної активності вирощуваних личинок осетрів (табл. 6.1.8). Найвища ліпазна активність спостерігається на 9 добу вигодовування артемією, після чого настає її зниження. Варто зазначити, що гідролітична активність навіть у близькоспоріднених видів може істотно відрізнятись. Так, отримані нами результати засвідчують значно нижчий рівень ліпазної активності в личинок атлантичного осетра, ніж у 4-тижневих личинках сибірського осетра, які також отримували збагачену ПНЖК артемією як живий корм [292].

Дослідження α -амілазної активності у личинок атлантичного осетра показали практично однакові тенденції протягом вигодовування як збагаченою, так і незбагаченою артемією (табл. 6.1.8). Достовірно відмінними були тільки значення, зафіксовані на 9 добу експерименту, при чому використання збагаченого живого корму зумовлювало вищі значення α -амілазної активності.

З огляду на одержану нами динаміку гідролітичної активності при застосуванні кормів з підвищеним вмістом ПНЖК підтверджується висунуте іншими авторами твердження щодо можливості модуляції панкреатичної секреції як есенціальними жирними кислотами, так і фосфоліпідами загалом. Дійсно, було показано, що поліпшення ефективності перетравлення у риб, які отримували високий вміст фосфоліпідів з кормом забезпечувалось посиленою секрецією холецистокініну – первинного регулятора панкреатичної секреції [266]. Припускають, що підвищений вміст ПНЖК в біомембранах клітин просвіту кишечника може модулювати активність холецистокініну. В цьому відношенні антагоністичний механізм зворотного зв'язку між активністю холецистокініну і трипсином був продемонстрований в личинок тріски, що додатково підтверджує існування холецистокінін-вивільняючого фактора. Слід зазначити, що найменша активність трипсину в личинок обернено корелює з більш високою активністю пепсину. Фактично, під час раннього личинкового онтогенезу спостерігається прогресивний зсув відносної активності від лужних до кислих протеаз. Як наслідок, зниження трипсинової активності може бути пов'язане з посиленням кислотного перетравлення в шлунку найкрупніших личинок.

Зважаючи на те, що біоінкапсуляція науплій артемії поліненасиченими жирними кислотами підвищує ймовірність протікання процесів пероксидного окислення ліпідів, нами було досліджено вміст ТБК-активних продуктів у личинок *Acipenser oxyrinchus*.

Хоч кінцевий етап експерименту характеризується деяким підвищенням концентрації ТБК-активних продуктів у дослідній групі осетрів, що вигодовувалися збагаченою артемією, однак рівень вторинних продуктів ПОЛ був нижчим від початкового (рис. 6.1.19).

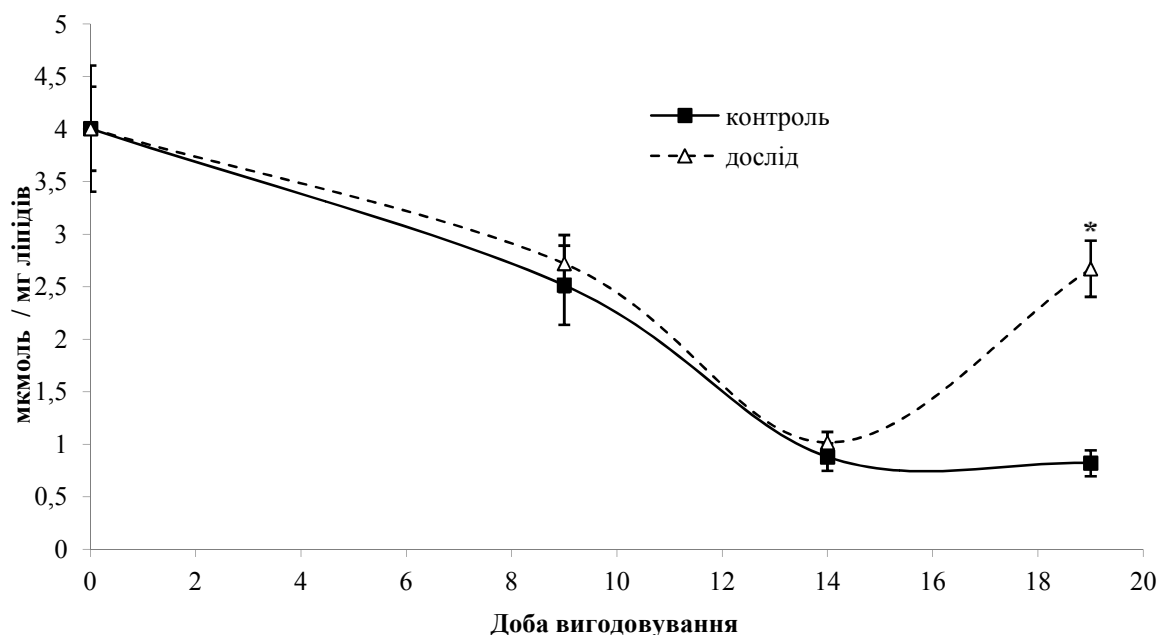


Рис. 6.1.19. Динаміка вмісту ТБК-активних продуктів у тілі личинок *Acipenser oxyrinchus*, що вирощувались на збагаченій артемії
 * різниця порівняно з контролем достовірна при $p \leq 0,05$

Встановлено, що вигодовування ранньої молоді осетрів як незбагаченою, так і збагаченою артемією не супроводжується накопиченням ТБК-активних продуктів, вміст яких протягом тривалості експерименту поступово знижується. Таке зниження вмісту ТБК-активних продуктів зумовлене злагодженою роботою системи антиоксидантного захисту організму личинок риб, активність якої була достовірно вищою на кінець експерименту в групі личинок, що отримували збагачений ПНЖК живий корм (рис. 6.1.20).

Отже, застосування технології біоінкапсуляції артемії ПНЖК-вмісним препаратом при вирощуванні ранньої молоді *A. oxyrinchus* забезпечує півтораразове збільшення маси личинок гостроногого осетра при незмінній динаміці виживаності. З огляду на показники виживаності та нарощення маси личинок осетра, застосування збагаченої артемії доцільно починати з 10 доби їх активного живлення.

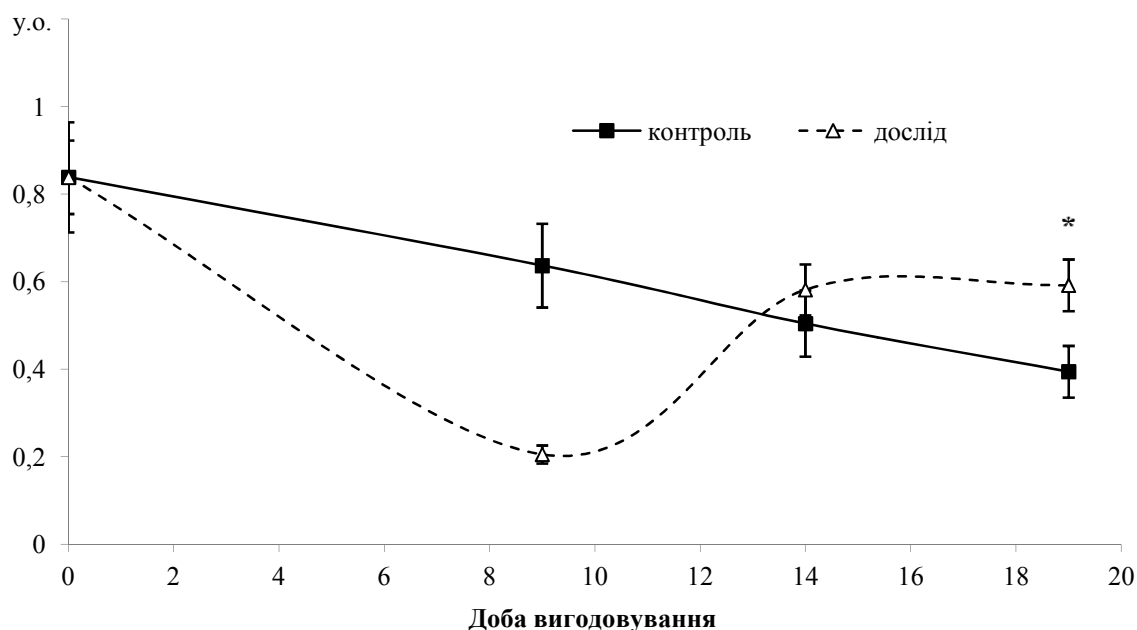


Рис. 6.1.20. Динаміка рівня антиоксидантної активності в тілі личинок *Acipenser oxyrinchus*, що вигодовувалися на збагаченій артемії
* різниця порівняно з контролем достовірна при $p \leq 0,05$

Годівля *A. oxyrinchus* збагаченою артемією достовірно не відображається на вмісті загальних ліпідів личинок риб. Використання ПНЖК-вмісного препарату для збагачення науплій артемії зумовлює підвищення у стартовому кормі рівня ДГК та ЕПК, що сприяє підвищенню рівня забезпеченості цими незамінними жирними кислотами личинок *A. oxyrinchus*. При цьому, біоінкапсуляція ПНЖК-вмісного препарату в науплії артемії не впливає на зміну гідролітичної ензиматичної активності у личинок риб.

Результати проведених досліджень також засвідчили позитивний ефект від процедури біоінкапсуляції поліненасичених жирних кислот у живі корми при вирощуванні личинок стерляді *Acipenser ruthenus*. При переведенні на екзогенне живлення личинки стерляді гинули протягом перших 6 діб вигодовування з максимальним відходом на 3-тю добу (рис. 6.1.21). Висока смертність очевидно зумовлена незрілістю кормової поведінки та функціональних механізмів живлення личинок осетрових

[293].

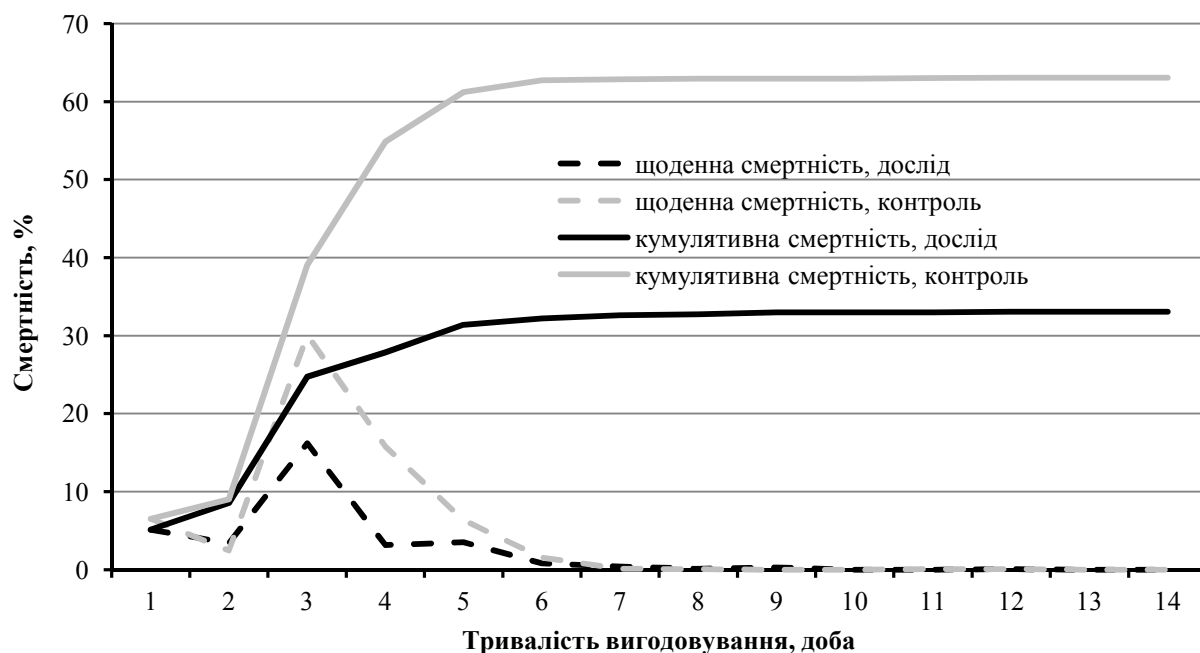


Рис. 6.1.21. Індекс кумулятивної смертності личинок *Acipenser ruthenus*, вигодовуваних на нативній та інкапсульованій ПНЖК артемії

Різниця у рівні виживаності личинок дослідної та контрольної груп стерляді була за період експерименту була істотною. Так, протягом всього періоду вигодовування живими кормами, кількість личинок, які вижили, при використанні ПНЖК-вмісного препарату, інкапсульованого в артемію, була у 2,4 рази вища.

Однак, достовірних відмінностей в темпах накопичення маси у личинок, які споживали інкапсульовану артемію, на кінець експерименту виявлено не було (рис. 6.1.22).

Закономірно, що на кінець експерименту в личинок стерляді, які отримували насичену ПНЖК артемію, вміст загальних ліпідів був вищим, ніж в особин контрольної групи (рис. 6.1.23).

У осетрових риб ліпіди здатні до запасання в різних тканинах, їх кількісний вміст у м'язах є досить великим. Проте, при вигодовуванні осетрових кормом з високим вмістом ліпідів, їх запасання відбувається, в

першу чергу, в печінці та в стінках травного тракту [176; 256].

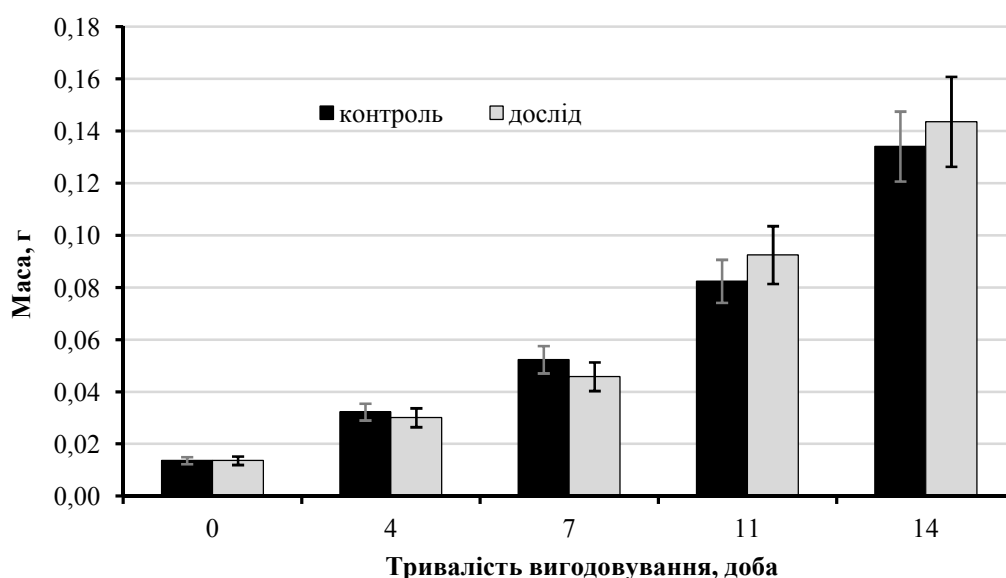


Рис. 6.1.22. Масонакопичення личинками *Acipenser ruthenus*, що вигодовувалися нативною та збагаченою ПНЖК артемією

Слід зазначити, що для личинок стерляді на момент початку зовнішнього живлення характерні цілком сформовані травні залози – печінка та підшлункова залоза. Печінка, зокрема, починає диференціюватися з моменту інкубації ікри і при переході личинок на зовнішнє живлення вже займає значний простір у черевній порожнині [360].

При вигодовуванні личинок стерляді насиченою ПНЖК артемією вміст протеїнів в їх тілі хоч і мав тенденцію до зростання, проте різниця не була статистично достовірною. Загалом, протягом всього періоду вигодовування стерляді живим кормом вміст білка суттєво не змінювався і підтримувався на рівні 35–45% від сухої маси.

Оцінити ефективність насичення кормових організмів поліненасиченими жирними кислотами можна за зміною жирнокислотного профілю личинок риб, які їх споживають. Слід зазначити, що кількісне співвідношення жирних кислот личинок до початку зовнішнього живлення

визначається їх вмістом у жовтку ікри [360], а значить умовами нагулу чи вигодовування материнського покоління.

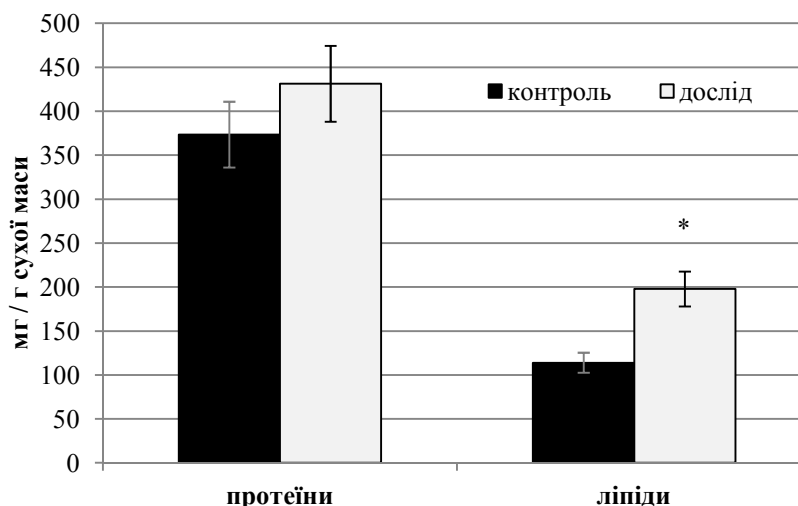


Рис. 6.1.23. Вміст основних нутрієнтів у тілі личинок стерляді після 14-ти денного вигодовування нативною та інкапсульованою ПНЖК артемією, $M \pm m$, $n=6$

*різниця між дослідною та контрольною групами достовірна при $p \leq 0,05$

Зауважимо, що для багатьох видів на сьогодні не розроблені спеціалізовані комерційні стартові корми. Однією з причин цього є специфічні вимоги до вмісту есенціальних сполу, зокрема поліненасичених жирних кислот під час ранніх етапів онтогенезу. Наприклад, ω -3 довголанцюгові ПНЖК, такі як ЕПК (20:5 ω -3) і ДГК (22:6 ω -3), відіграють важливу роль у розвитку нервової системи та стресостійкості личинок і мальків судака [266], дефіцит ДГК у кормі спричиняє шоківі синдроми і значну смертність. Хоча інші окуневі риби, такі як близькоспоріднений *Sander vitreus*, мають порівняно нижчу потребу у ПНЖК, а личинки окуня звичайного (*Perca fluviatilis*) володіють обмеженою здатністю до видовження і десатурації 18-С ω -3 ПНЖК до ЕПК і ДГК. Однак більшість видів риб такої властивості не мають, що робить необхідним екзогенне надходження ДГК з кормом.

Жирнокислотний профіль личинок стерляді до переходу на екзогенне живлення відмінний від ЖК профілю гостроносого осетра. Так, у півтора рази меншою є частка ω -3 поліненасичених жирних кислот, удвічі – ω -3/ ω -6 співвідношення (табл. 6.1.9). Це ймовірно викликано різницею в нагульних умовах – стерлядь досягає статевої зрілості перебуваючи в прісній воді, тоді як інші осетрові до досягнення статевої зрілості нагулюються в морі і заходять в ріки лише на нерест. Як відомо жирнокислотний профіль прісноводних і морських безхребетних, які складають основу природної кормової бази, істотно відрізняється.

Таблиця 6.1.9

Жирнокислотний профіль личинок стерляді після 14-ти денного вигодовування нативною та інкапсульованою ПНЖК артемією, $M \pm m$, $n=3$

№	Жирні кислоти		С, %		
			до годівлі	після 14 діб на контрольній артемії	після 14 діб на збагаченій артемії
1	Енантова	C7:0	0,029±0,002	-	-
2	Каприлова	C8:0	0,119±0,006 ^{2,3}	0,025±0,001 ^{1,3}	0,019±0,001 ^{1,2}
3	Пеларгонова	C9:0	0,036±0,002	-	-
4	Капринова	C10:0	0,010±0,001 ³	0,009±0,001 ³	0,020±0,001 ^{1,2}
5	Лауринова	C12:0	0,036±0,002 ³	0,035±0,002 ³	0,043±0,002 ^{1,2}
6	Тридеканова	C13:0	0,021±0,001 ^{2,3}	0,011±0,001 ^{1,3}	0,016±0,001 ^{1,2}
7	Ізоміристинова	Ci14:0	-	0,050±0,002	0,046±0,002
8	Міристинова	C14:0	2,068±0,093 ^{2,3}	1,124±0,036 ^{1,3}	0,631±0,034 ^{1,2}
9	Пентадеканова	C15:0	0,089±0,006 ^{2,3}	0,377±0,013 ^{1,3}	0,330±0,018 ^{1,2}
10	Ізопальмітинова	Ci16:0	0,159±0,005 ^{2,3}	0,372±0,015 ¹	0,364±0,017 ¹
11	Пальмітинова	C16:0	18,546±1,299 ³	16,496±1,102	15,601±0,798 ¹
12	Маргарінова	C17:0	0,525±0,019 ^{2,3}	0,766±0,027 ¹	0,796±0,051 ¹
13	Ізостеаринова	Ci18:0	-	0,057±0,003 ³	0,081±0,005 ²
14	Стеаринова	C18:0	4,115±0,155 ^{2,3}	5,943±0,260 ¹	6,616±0,288 ¹
15	Арахінова	C20:0	1,200±0,040 ^{2,3}	2,270±0,103 ^{1,3}	2,789±0,119 ^{1,2}
16	Генейкозана	C21:0	0,272±0,016 ^{2,3}	0,605±0,035 ^{1,3}	0,385±0,021 ^{1,2}
17	Бегенова	C22:0	0,406±0,014 ^{2,3}	1,549±0,036 ^{1,3}	1,191±0,054 ^{1,2}
Σ НЖК			27,629	29,689	28,929
18	Лауролейнова	C12:1	0,020±0,001 ³	-	0,087±0,004 ¹
19	Міристоолейнова	C14:1	-	0,057±0,003	-
20	Пентадеценива	C15:1	0,356±0,019 ^{2,3}	0,196±0,012 ^{1,3}	0,153±0,007 ^{1,2}
21	Пальмітоолейнова	C16:1	5,102±0,147 ³	4,534±0,229 ³	3,636±0,192 ^{1,2}

продовження таблиці 6.1.9

22	Гептадеценінова	C17:1	0,435±0,028 ^{2,3}	0,778±0,041 ¹	0,782±0,032 ¹
23	Олеїнова	C18:1	31,383±1,974 ^{2,3}	25,748±1,261 ¹	26,925±1,833 ¹
24	Гондова	C20:1	2,242±0,129 ^{2,3}	1,296±0,035 ^{1,3}	0,909±0,045 ^{1,2}
25	Ерукова	C22:1 ω-9	1,822±0,068	-	-
Σ МНЖК			41,359	32,609	32,491
26	Гексадекадієнова	C16:2 ω-6	0,166±0,005 ^{2,3}	0,770±0,030 ¹	0,807±0,046 ¹
27	Лінолева	C18:2 ω-6	9,832±0,433 ^{2,3}	8,704±0,343 ^{1,3}	7,661±0,470 ^{1,2}
28	Ліноленова	C18:3 ω-3	1,698±0,073 ^{2,3}	10,388±0,471 ^{1,3}	12,944±0,819 ^{1,2}
29	Ейкозатрисінова	C20:3 ω-6	0,189±0,012 ^{2,3}	0,553±0,016 ^{1,3}	0,340±0,014 ^{1,2}
30	Арахідонова	C20:4 ω-6	3,377±0,118 ³	3,194±0,111 ³	4,383±0,260 ^{1,2}
31	Ейкозапентаєнова	C20:5 ω-3	4,086±0,171 ^{2,3}	5,258±0,237 ¹	5,094±0,269 ¹
32	Докозадієнова	C22:2 ω-6	-	0,039±0,001 ³	0,049±0,002 ²
33	Докозатрієнова	C22:3 ω-3	0,165±0,009 ²	0,034±0,002 ¹	-
34	Докозатетраєнова	C22:4 ω-6	0,166±0,011 ^{2,3}	0,233±0,010 ^{1,3}	0,198±0,009 ^{1,2}
35	Докозапентаєнова	C22:5 ω-3	-	0,683±0,047	0,626±0,031
36	Докозагексаєнова	C22:6 ω-3	10,518±0,659 ^{2,3}	6,634±0,213 ^{1,3}	5,752±0,249 ^{1,2}
Σ ПНЖК			30,196	36,489	37,853
Σ ω-3			16,466	22,997	24,415
Σ ω-6			13,730	13,492	13,438
ω-3 / ω-6			1,199	1,704	1,817
ДГК / ЕПК			2,57	1,26	1,13

¹ різниця з личинками до годівлі статистично достовірна при $p \leq 0,05$;

² різниця з личинками після годівлі інтактною артемією статистично достовірна при $p \leq 0,05$;

³ різниця з личинками після годівлі збагаченою артемією, статистично достовірна при $p \leq 0,05$.

Зважаючи на зростання сумарної частки легкоокиснюваних ПНЖК у дослідній групі личинок стерляді, нами було прослідковано динаміку утворення ТБК-активних продуктів. Встановлено, що їх накопичення у тканинах личинок стерляді як дослідної, так і контрольної груп спостерігається, починається з 7-ї доби вигодовування (рис. 6.1.24).

Хоч вміст загальних ліпідів протягом експерименту у контрольній групі молоді риб знижується, а у дослідній залишається стабільним, рівень ТБК-активних продуктів з 7-ої доби і до кінця експерименту перевищує початкові значення приблизно у 5 разів. Саме в цей період, ймовірно, відбувається акумуляція в тканинах поліненасичених жирних кислот, які є

мішенню для активних форм кисню [176]. Використання сполук із антиоксидантними властивостями при вигодовуванні риб сприяє зменшенню інтенсивності окиснення ліпідів [209].

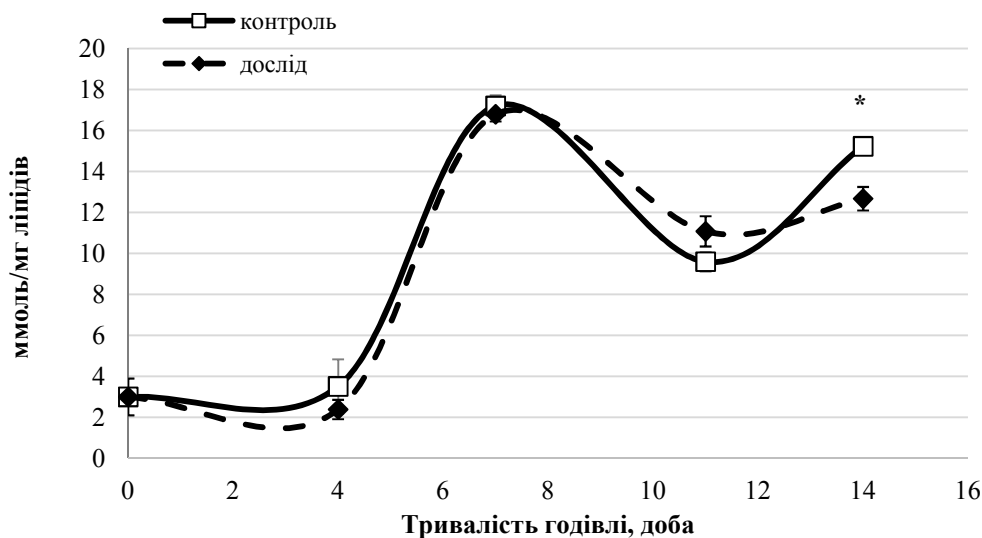


Рис. 6.1.24. Рівень ТБК-активних продуктів у личинок стерляді при вигодовуванні нативною та збагаченою артемією

**різниця між дослідною та контрольною групами достовірна при $p \leq 0,05$*

Формування основних анатомічних структур травної системи личинок стерляді триває 8 діб після вилуплення і повністю закінчується до початку переходу риб на екзогенне живлення на 9-ту добу, супроводжуючись видаленням меланінової пробки [360]. Завершення ж формування пілоричних придатків у стерляді відбувається тільки на 12 день після вильову [293]. На момент переходу на зовнішнє живлення в кишечнику травні ферменти неактивні, вони знаходяться у формі зимогенів [80, 360]. Це зумовлює необхідність надходження гідролітичних ферментів разом із кормом, оскільки, протеїнази кормових організмів забезпечують не лише їх автоліз в травному тракті, але й первинну активацію зимогенів травних ферментів личинок риб. Застосування кормових організмів з високим рівнем гідролітичної активності позитивно впливає на ензиматичний фон травного тракту личинок риб на початкових етапах розвитку.

Застосування інкапсульованої поліненасиченими жирними кислотами артемії позитивно вплинуло на формування рівня протеолітичної активності при нейтральному та лужному рН у личинок стерляді (рис. 6.1.25). У стерляді як і інших риб активність протеаз при лужних значеннях рН зумовлена роботою трипсину та карбоксипептидази В [330].

Забезпечення формування загальної протезної активності на достатньому фізіологічному рівні у риб є критично важливим, оскільки, використання протеїнів для забезпечення енергетичних потреб у риб відбувається в значно більшій мірі, ніж в інших хребетних тварин [293].

Відомо, що докозагексаєнова кислота та її похідні модулюють у риб панкреатичну секреторну активність та активність ентероцитів [266].

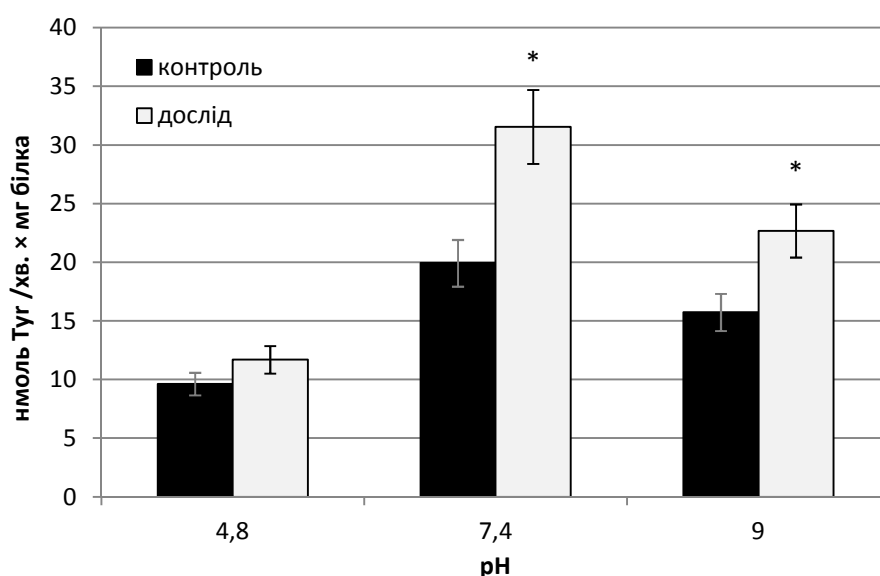


Рис. 6.1.25. Протеолітична активність при різних рН у личинок стерляді при вигодовуванні нативною та збагаченою артемією
**різниця між дослідною та контрольною групами достовірна при $p \leq 0,05$*

Висока гідролітична активність в травному тракті личинок риб дозволяє їм ефективніше засвоювати поживні речовини, які надходять з кормами, що у свою чергу позитивно відображається на виживаності ранньої молоді та інтенсивності ростових процесів. Вигодовування збагаченою артемією личинок стерляді дозволило удвічі скоротити рівень

їх смертності (рис. 6.1.21).

Як і в експерименті з личинками атлантичного осетра застосування артемії з підвищеним вмістом поліненасичених жирних кислот стимулювало зростання загальної ліпазної активності (рис. 6.1.26). У личинок стерляді контрольної групи ліполітична активність синхронно знижується з вмістом загальних ліпідів, тоді як в особин дослідної групи стабільне надходження ліпідів в організм личинок при згодовуванні їм живого корму з високим вмістом ПНЖК підтримує високий рівень ліполітичної активності. У риб вагомий внесок у формування загальної ліполітичної активності в кишечнику робить так звана неспецифічна панкреатична ліпаза [218]. Враховуючи роль докозагексаєнової кислоти в модуляції панкреатичної секреції [266] можна отримати додаткове пояснення підвищення загальної ліпазної активності в личинок стерляді при використанні інкапсульованих поліненасиченими жирними кислотами живих кормів.

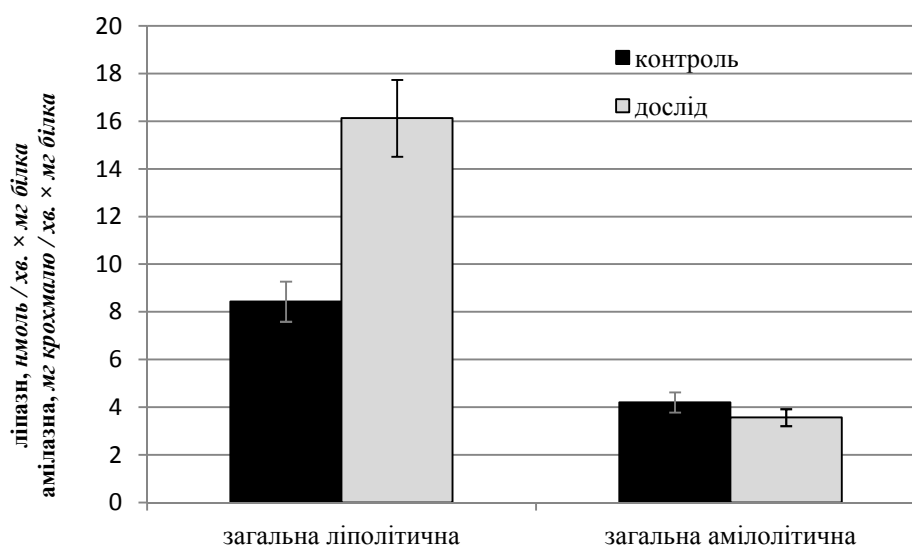


Рис. 6.1.26. Динаміка загальної ліпазної та загальної амілолітичної активностей у личинок стерляді при вигодовуванні контрольною та збагаченою артемією

При визначенні α -амілазної активності в личинках риб обох груп була

відмічена однакова тенденція, хоча показники дослідної групи були дещо нижчими (рис. 6.1.26). Кінець експерименту не виявив ніяких відмінностей у амілазній активності між двома групами молоді стерляді.

Отже, застосування ПНЖК-вмісного препарату, біоінкапсульованого в науплії артемії, в ранньому вигодовуванні личинок стерляді супроводжується підвищенням виживаності ранньої молоді риб у 2,4 рази при незмінному прирості маси.

Застосування збагаченої артемії сприяє підвищенню вмісту загальних ліпідів, однак це істотно не відобразилось на співвідношенні основних груп та рівні окремих жирних кислот. Вплив збагачення живого корму ПНЖК-вмісним препаратом на гідролітичну активність у личинок стерляді прослідковується у підвищенні протеолітичної активності при нейтральних та лужних значеннях рН, також ліпазної активності.

6.2. Попередження нутрієнтної депривації при створенні функціональних живих кормів в аквакультурі

При великих обсягах отримання рибопосадкового матеріалу, зазвичай, використовуються автоматичні годівниці (так звані автофідери), що цілодобово забезпечують дозовану подачу кормових організмів личинкам вирощуваних риб. Період знаходження науплій в автофідерах досягає 12-24 годин. Протягом такого тривалого перебування в фідбоксах, внаслідок голодування, частина науплій гине, а в тих, що вижили, розвивається нутрієнтна депривація та знижується поживна цінність. Виходом з даної ситуації може бути сумісне утримання науплій артемії та їх кормових об'єктів – інфузорій, дріжджів, мікроводоростей, або біоінкапсуляція препаратами, виготовленими на їх основі.

Як відомо, науплії артемії характеризуються високою поживною цінністю. Перші години життя науплії не харчуються, а використовують власні ресурси організму. Проте, найбільшу поживну цінність науплії мають відразу після їх вилуплення (до 24 годин); після того як личинки артемії проходять стадії линьки, вони втрачають більшу частину своєї поживної цінності і важко засвоюються мальками [190].

Як показали результати проведених нами досліджень, проблемою використання артемії при вигодовуванні личинок риб є втрата поживної цінності та відмирання частини науплій під час їх перебування в автоматичних фідбоксах.

Так, при 24-годинному перебуванні в культивацийному середовищі спостерігається поступове зростання індексу кумулятивної смертності науплій (рис. 6.2.1).

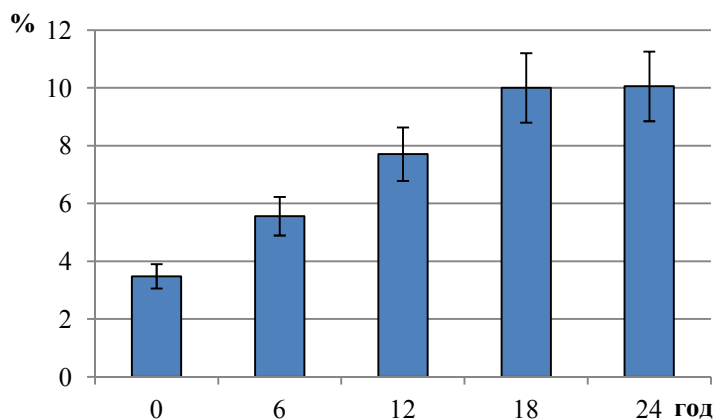


Рис. 6.2.1. Динаміка індексу кумулятивної смертності науплій артемії при перебуванні у фідбоксах

Це пояснюється тим, що протягом перших 6-8 годин після вилуплення наупліуси знаходяться на першій стадії розвитку та не живляться [336]. У період з 12-и годин після вилуплення наупліуси перетворюються в метанауплії, вони переходять на зовнішнє живлення. Підвищення смертності інтактних особин пов'язане з їх загибеллю від

голоду.

Окрім того, відмічено суттєве зниження поживної цінності науплій протягом першої доби. Зокрема, спостерігається різке зниження вмісту білків та ліпідів вже на 18-у годину після вилуплювання науплій з цист, а каротиноїдів – практично одразу, на 6-у годину (табл. 6.2.1).

На початковому етапі розвитку науплії як енергетичний субстрат використовують переважно ліпіди, а не білки, жовткового мішка. Ймовірно, цим пояснюється відносно стабільний рівень протеїну протягом 12 годин після вилуплення. На наступних етапах розвитку відсутність поступлення білка ззовні з кормом на фоні вичерпання резервних нутрієнтів цист викликає зменшення вмісту білка в тілі голодуючих артемій.

Таблиця 6.2.1

Вміст загальних білків, ліпідів та каротиноїдів в наупліях *Artemia*

Час після вилуплення	Загальні протеїни, мг/г	Загальні ліпіди, мг/г	Загальні каротиноїди, мг/г
0 год.	569.9±60.7	171.0±14.3	0.267±0.001
6 год.	545.8±55.1	160.7±18.4	0.191±0.005*
12 год.	550.9±23.0	157.4±10.0	0.148±0.004*
18 год.	413.5±33.8*	140.7±12.4*	0.126±0.007*
24 год.	411.5±25.2*	132.0±9.6*	0.078±0.008*

Примітка: * - відмінності, у порівнянні із значеннями на початок експерименту (0 год.), статистично вірогідні при $p \leq 0,05$

Таким чином, нами встановлено, що зростання смертності, втрата поживної цінності науплій артемії під час їх перебування в фідбоксах істотно знижує їх цінність як живого корму. Це може викликати нутрієнтну депривацію в личинок риб, які вигодовуватимуться виснаженим живим кормом. Виходом із такої ситуації може бути додавання в середовище кормових субстратів для артемії.

У такій якості нами було апробовані дві протеїн-багаті кормові добавки – продукт переробки дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* NuPro® (Alltech Inc., UK) та альгопрепарат AlgaMac Protein Plus (Aqua fauna Bio-Marine, Inc., USA).

NuPro – біологічно активна кормова добавка, яка окрім протеїну є багатою на нуклеотиди, вітаміни групи В, есенціальні амінокислоти. В основі даного препарату – сухий екстракт культури дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*. Як відомо, використання кормових дріжджів має певні труднощі. Клітинна стінка, частка якої може досягати до 50% від сумарної маси клітин, знижує ефективність засвоєння біомаси дріжджів. Гідроліз клітинної стінки може усунути дану проблему [187]. Гідролізовані дріжджі хоч і більш ефективно засвоюються шлунково-кишковим трактом тварин, однак, містять залишки клітинної стінки, що знижує частку протеїну. У NuPro вміст сирого протеїну становить близько 47-50% за рахунок видалення решток клітинних стінок [167].

Додавання препарату NuPro у концентраціях 0,1 та 0,2 г/л у культивуальне середовище з наупліями артемії дозволяє призупинити зниження вмісту протеїну та стабілізує його на рівні, який мали науплії безпосередньо після вилуплювання з цист (рис. 6.2.2). Застосування найбільшої з досліджуваних концентрацій препарату (0,4 г/л) забезпечило поступове зростання вмісту загального білка.

Схожа позитивна тенденція до попередження втрати протеїну та загрози розвитку білкової недостатності спостерігалась при застосуванні альгопрепарату Algamac (рис. 6.2.3). Проте, слід зазначити, що підвищення вмісту білку порівняно з контролем відбувається вже на 12-ту, а не на 18-ту годину культивування, як в експерименті з NuPro. Це свідчить, про ефективніше засвоєння альгопрепарату на ранніх стадіях розвитку артемії. Відомо, що водорості є основою природної кормової бази артемії.

Препарат AlgaMac Protein Plus являє собою висушену та зруйновану біомасу різних видів водоростей та гетеротрофних мікроорганізмів. Загальний вміст протеїну в даному препараті складає 43%, що дещо менше, ніж в препараті NuPro.

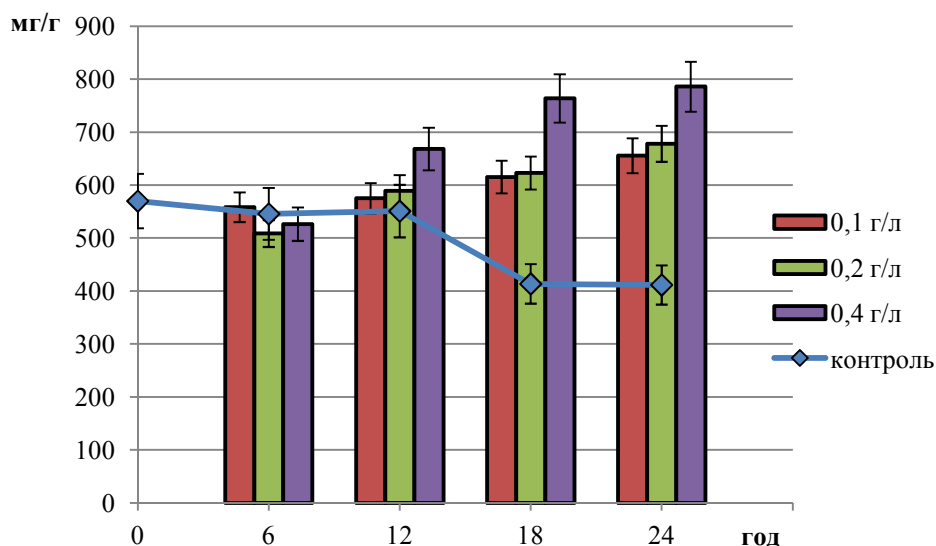


Рис. 6.2.2. Вплив різних концентрацій препарату NuPro на вміст загальних білків в організмі науплій артемії

Важливою характеристикою корму є не лише вміст протеїну, але й співвідношення окремих амінокислот у кормовому протеїні [80]. Використання протеїну з незбалансованим амінокислотним профілем не забезпечує очікуваної швидкості нарощення біомаси у гідробіонтів із-за підвищених енергозатрат організму на процеси трансамінування, а також підвищує рівень надходження надлишкового нітрогену у воду, що створює додаткове навантаження на системи очищення води. У зв'язку із вище сказаним останнім часом набули популярності дослідження, які розвивають концепцію ідеального протеїну для окремих видів гідробіонтів [361].

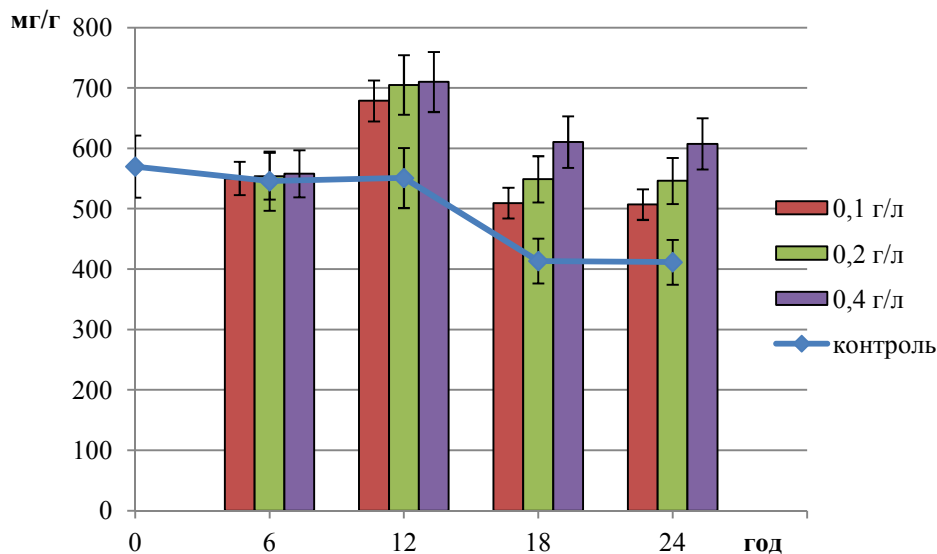


Рис. 6.2.3. Динаміка вмісту загальних протеїнів в організмі науплій артемії за дії різних концентрацій препарату AlgaMac Protein Plus

Зазвичай при аналізі амінокислотного складу корму для риб особлива увага приділяється вмісту незамінних амінокислот, недостатність яких гальмує ріст, знижує засвоюваність їжі, негативно відображається на життєстійкості риб [80]. Забезпечення кормових організмів таких як *Artemia* незамінними амінокислотами у достатній кількості з одного боку підвищує нутрієнтну цінність цих організмів як корму, а з іншого сприяє прискоренню збільшення біомаси культур цих організмів. Адже відомо, що есенціальні амінокислоти є важливими регуляторами основних метаболічних шляхів та беруть безпосередню участь в процесах росту, репродукції, підтримці імунної системи тваринних організмів. [361]. Забезпечення тварин (кормового зоопланктону, риб) кормами з високим вмістом незамінних амінокислот сприяє підвищенню загального вмісту протеїну.

Зазначимо, що для науплій артемії одразу після вилуплення притаманний досить високий вміст розчинного білку (близько 70% від усього протеїну складають розчинні білкові компоненти). При цьому

половина їх представлена низькомолекулярними пептидами та вільними амінокислотами. Очевидно, що пептиди невеликих розмірів легко засвоюються личинками і тим самим забезпечується необхідна кількість незамінних амінокислот для інтенсивних синтетичних процесів, що відбуваються в ранньому ембріогенезі [80].

Під час голодування при перебуванні в кормобоксах надходження екзогенного білку та, відповідно, незамінних амінокислот в організм артемії припиняється, що супроводжується поступовим виснаженням їх пулу внаслідок активного використання в метаболічних процесах, пов'язаних з підтримкою життєдіяльності артемії. Важливо, щоб препарати, які біоінкапсулюються в артемії, попереджували ці процеси та забезпечували збалансоване надходження в організм мальків риб усіх амінокислот.

Аналіз амінокислотного складу досліджуваних груп артемії показав, що, загалом, застосування препаратів на основі біомаси дріжджів та водоростей забезпечує підтримку кількісного розподілу амінокислот на рівні, притаманному артеміям одразу після вилуплення, тобто, в період їх найбільшої поживної цінності (рис. 6.2.4). Зазначимо, що вміст лізину, метіоніну та аргініну в тілі водних безхребетних є суттєво вищим, ніж в рослинних та мікробних білках та наближається за таким до організму риб, чим, власне й зумовлена вища цінність тваринного живого корму.

Привертає увагу лише зниження кількісного вмісту незамінної амінокислоти лейцину при застосуванні препарату NuPro, що, очевидно, пов'язано з особливостями амінокислотного складу дріжджової біомаси. Відомо, що *S. cerevisiae* відрізняється низьким вмістом метіоніну, гістидину [80]. Це є однією з основних причин, за якою гідролізні дріжджі, які протягом останніх десятиліть активно безпосередньо застосовувались як компоненти раціону для риб, володіють меншою поживною цінністю.

Технологія біоінкапсуляції в зоопланктон нівелює «недоліки» дріжджового білку та забезпечує надходження в організм риб функціонального корму з амінокислотним складом, близьким до такого у гідробіонтів.

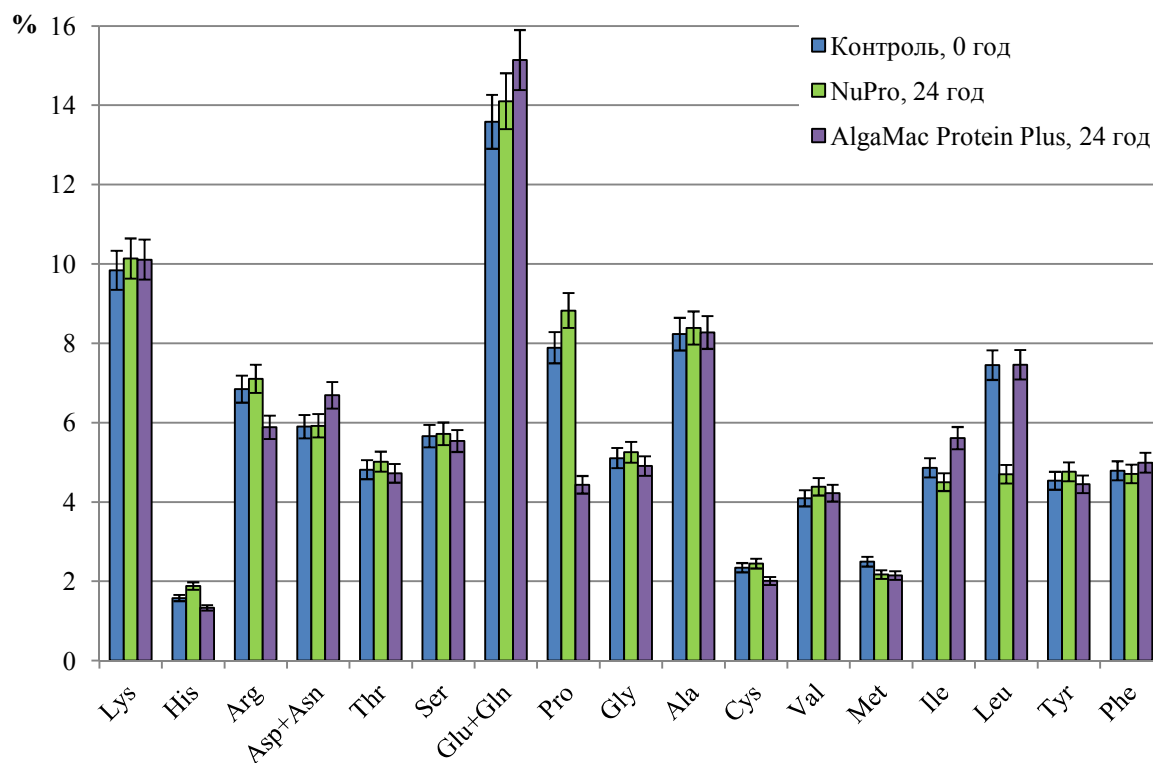


Рис. 6.2.4. Амінокислотний профіль науплій артемії

Відомо, що глутамінова кислота забезпечують здійснення процесів трансамінування. Загалом, глутамінова кислота виступає джерелом недиференційованого нітрогену і в цьому аспекті випереджає аспарагінову кислоту та аланін. Показано, що використання глутамінової кислоти як кормової добавки дозволяє виключити з суміші інші замінімі амінокислоти, окрім гліцину. Такий ефект пов'язаний з виключною метаболічною активністю глутамінової кислоти, що особливо ефективно на фоні малобілкової дієти у ростучих організмів [361].

Відповідно, підвищення сукупної частки глутаміну та глутамінової кислоти у збагаченій препаратом Algamac артемії на фоні збільшеної протеолітичної активності (рис. 6.2.4) свідчить про активне засвоєння

протеїну внесеного препарату. Активне використання глутамінової кислоти може спричинити зменшення вмісту проліну, який синтезується з неї.

Встановлений нами знижений вміст проліну не зменшує поживну цінність артемії, оскільки пролін безпосередньо синтезується з глутамату і є його циклічним похідним.

Важливою перевагою застосування артемії як живого корму у порівнянні з гранульованим є їх здатність активно сприяти роботі травної системи личинок риб, що на початкових етапах онтогенезу слабо розвинута. Це забезпечується комплексом їх гідролітичних ферментів, серед яких важлива роль належить протеїназам. При цьому значну роль в процесах аутодеградації відіграють не лише травні ферменти, а й лізосомальні ензими тканин жертви [103]. Використання живого корму зі зниженою гідролітичною активністю може негативно впливати на роботу травного тракту личинок риб при їх переході на екзогенне живлення.

Варто зазначити, що в артропод, до яких відноситься і артемія, не виявлено пепсинів. Проте спостерігається висока активність трипсину та хімотрипсину. Активність серинових протеїназ у цих тварин реєструється в діапазоні рН 5,5-10,0, однак оптимальні значення як правило, знаходяться в діапазоні 7,5–8,5. Серинові протеїнази безхребетних як правило нестабільні при кислих значеннях рН. Натомість активність в проміжку рН 2,0–6,5 у зоопланктону проявляють катепсини. Саме катепсинам відводиться основна роль у процесах індукованого аутолізу, який відбувається в кишечнику личинок риб при споживанні живого корму. У ряді випадків катепсини, зокрема катепсин Н, зберігають активність і при нейтральних значеннях рН [103; 358].

Враховуючи вище вказане, дослідження загальної протеолітичної активності в живих кормах проводили при значеннях рН, що відповідають оптимальним значенням для кислих, нейтральних і лужних протеїназ.

Проведені експерименти показали зростання загальної протеолітичної активності в тілі науплій артемії при трьох аналізованих значеннях рН – 4,8; 7,4 та 9,0 за умов використання препарату NuPro в усіх досліджуваних концентраціях (рис. 6.2.5).

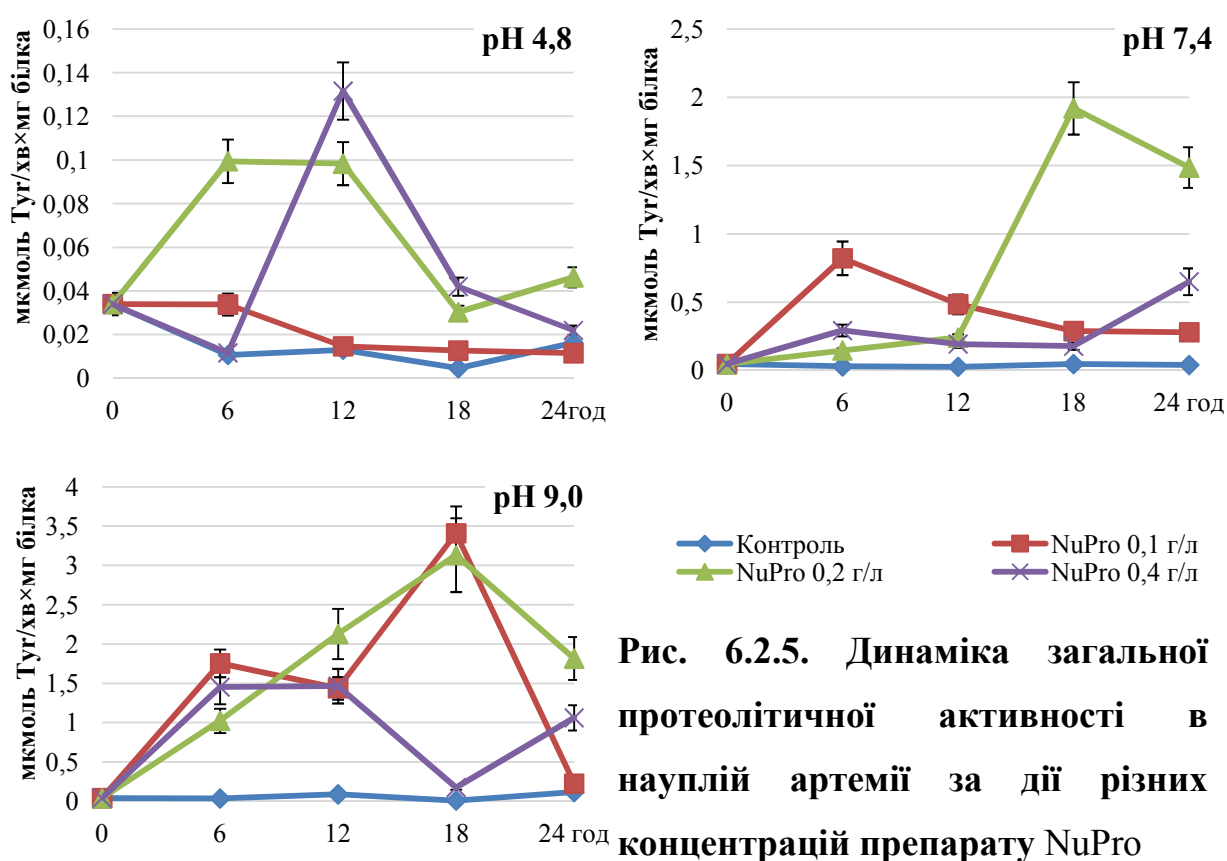


Рис. 6.2.5. Динаміка загальної протеолітичної активності в науплій артемії за дії різних концентрацій препарату NuPro

У науплій артемії найнижчий рівень протеолітичної активності спостерігається при кислих значеннях рН, що підтверджується даними інших авторів [103]. Підвищення протеолітичної активності при додаванні NuPro може бути зумовлене активною утилізацією екзогенних протеїнів препарату. Слід зазначити, що найбільший стимулюючий ефект на

протеолітичну активність науплій артемії станом на 24 годину чинить застосування концентрації 0,2 г/л.

При застосуванні препарату AlgaMac Protein Plus для підтримання поживної цінності науплій артемії, в останніх спостерігаються більш чіткі тренди до наростання в динаміці загальної протеолітичної активності (рис. 6.2.6). Відомо, що одним з факторів, який істотно впливає на засвоюваність протеїнів тваринами є присутність в кормі достатньої кількості ліпідів [80], які виступають у водних організмів основним енергетичним субстратом. Наявність ліпідів у кормі знижує залучення білка в енергетичний обмін, тим самим сприяє його утриманню в організмі та використанню для ростових процесів. У препараті AlgaMac Protein Plus міститься до 20 % ліпідів на відміну від NuPro, в якому ліпіди практично відсутні. Ймовірно, збалансоване співвідношення основних нутрієнтів у альгопрепараті, наближене до природного співвідношення в живих кормових об'єктах, сприяє кращому засвоєнню білка артемією.

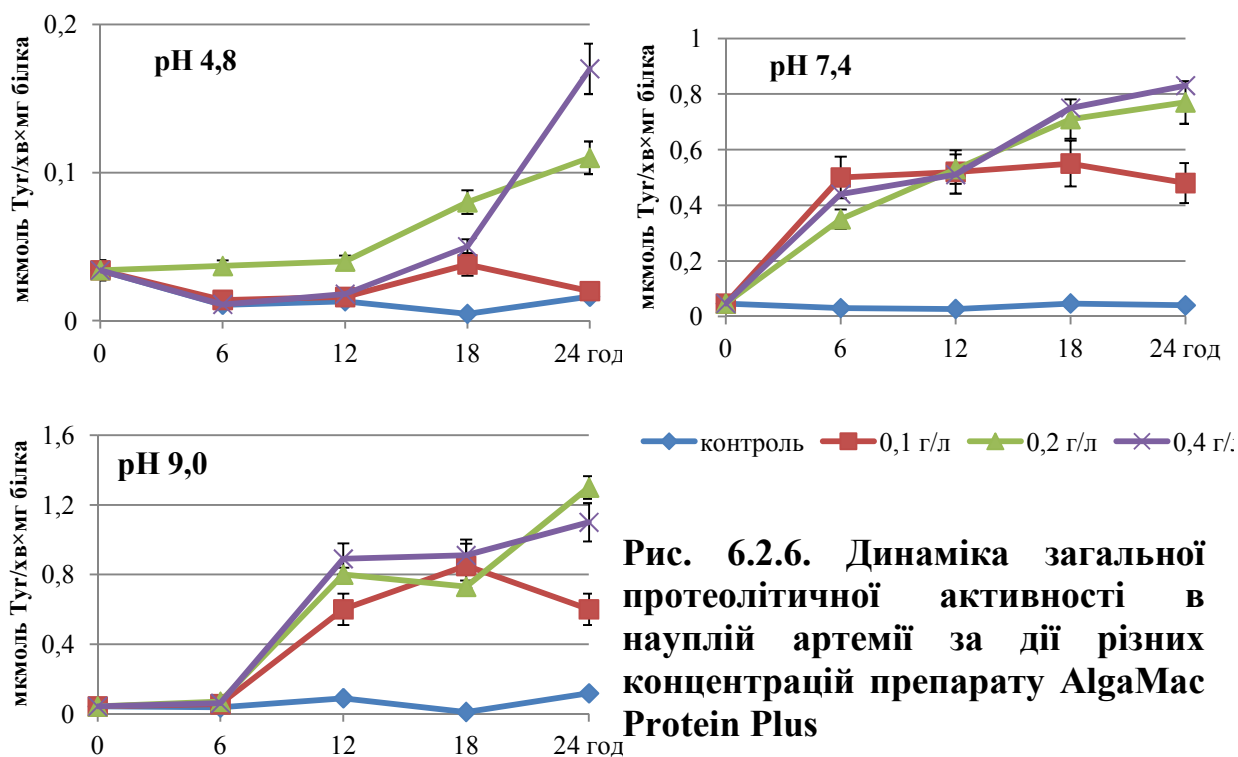


Рис. 6.2.6. Динаміка загальної протеолітичної активності в науплій артемії за дії різних концентрацій препарату AlgaMac Protein Plus

Застосування дріжджового препарату NuPro як кормового субстрату для артемії дозволяє зменшити смертність науплій протягом 24 год. Так, якщо в контрольній групі індекс кумулятивної смертності на кінець експерименту становила близько 10%, то в дослідній групі, яка отримувала дріжджовий продукт в кількості 0,1 г/л, значення даного показника було в 1,25 рази нижче (рис. 6.2.7). Збільшення дози внесення дріжджового препарату в середовище культивування артемії є недоцільним, оскільки найнижчі значення показники смертності зареєстровані при застосуванні найменшої з досліджуваних концентрації препарату. Позитивний ефект від застосування кормової добавки проявився починаючи з 12 години експерименту. Це очевидно, пов'язано з тим, що науплії починають екзогенно живитися лише з 8-12 години після вилуплення.

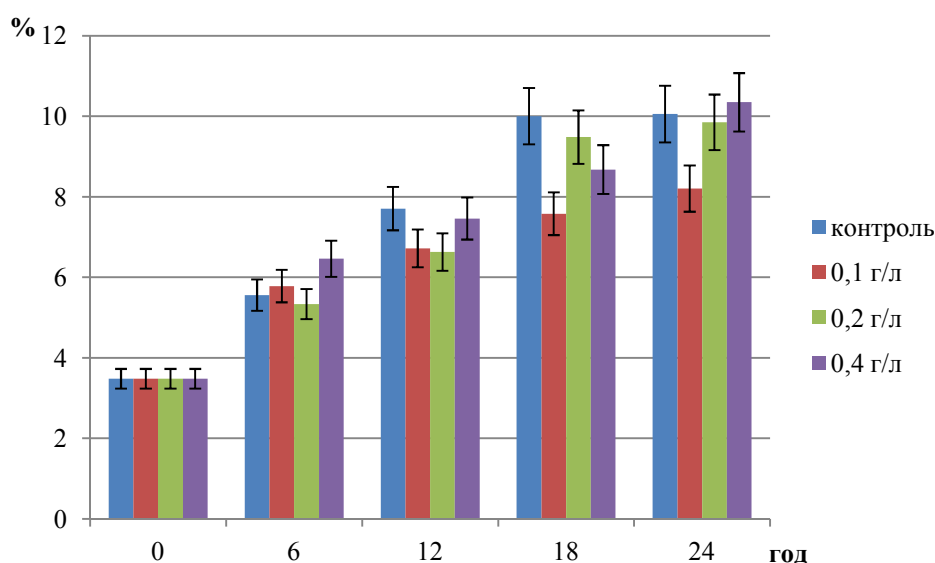


Рис. 6.2.7. Вплив різних концентрацій препарату NuPro на динаміку індексу кумулятивної смертності науплій артемії

Таким чином, додавання препарату NuPro в концентрації 0,1 г/л в середовище культивування артемії забезпечення зменшення смертності науплій, що дозволяє рекомендувати використання дріжджового препарату

NuPro для зменшення рівня смертності науплій артемії під час їх перебування в автоматичних годівницях.

Відомо, що артемія на всіх стадіях розвитку, у тому числі і самих ранніх, надає перевагу кормовим об'єктам, діаметр яких знаходиться у межах 3-8 мкм [269]. Розмір частинок AlgaMac Protein Plus не перевищує 10 мкм. Нами передбачалось, що застосування подрібненої біомаси водоростей забезпечить ефективне засвоєння їх артемією. Проте результати проведених досліджень засвідчили значно вищий рівень смертності науплій після 24 годин інкубації при використанні досліджуваного препарату, порівняно з контрольною групою науплій (рис. 6.2.8).

Найбільш виражений позитивний ефект від використання препарату AlgaMac Protein Plus спостерігали з 12 по 18 години при використанні усіх досліджуваних концентрацій. Збільшення смертності на кінцевому етапі дослідження очевидно пов'язаний з погіршенням якості води органічною речовиною, що вивільнюється з залишків препарату, які не були поглинуті артемією протягом попередніх годин культивування.

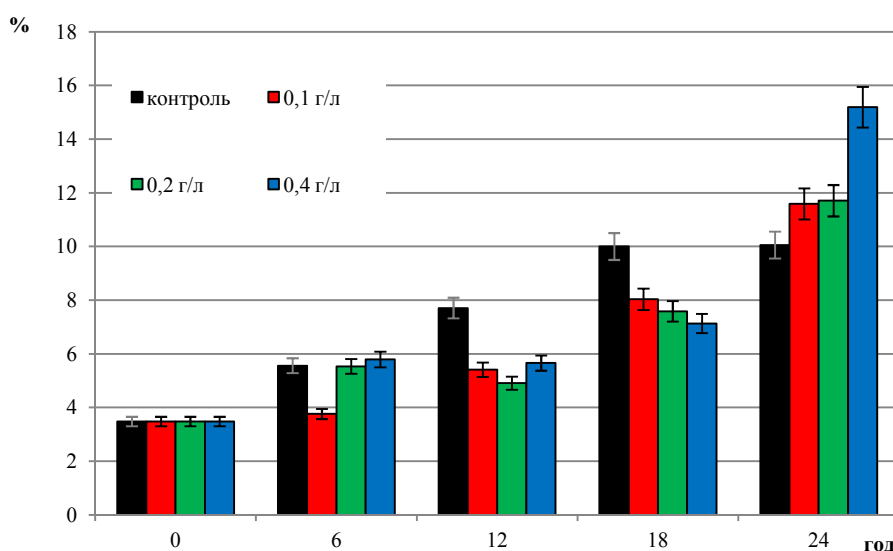


Рис. 6.2.8. Вплив різних концентрацій препарату AlgaMac Protein Plus на динаміку індексу кумулятивної смертності науплій артемії

Негативним наслідком використання кормових субстратів для підтримання життєздатності артемії в кормобоксах може бути надмірне збільшення розмірів науплій [190]. Такі підрощені кормові організми можуть бути недоступними для личинок риб.

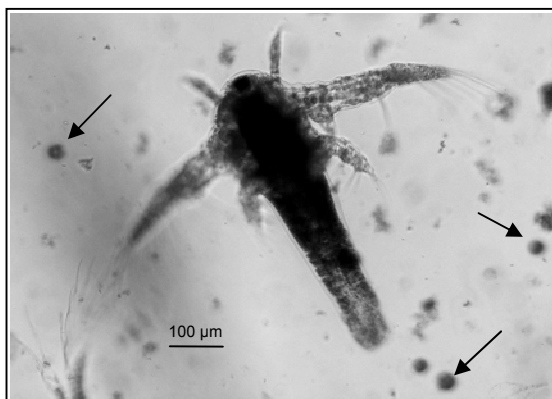


Рис. 6.2.9. Співвідношення лінійних розмірів артемії та кормових частинок препарату NuPro, 6 година біоінкапуляції

Аналіз динаміки розмірних характеристик науплій засвідчив відсутність достовірних відмінностей в лінійних розмірах у 24-годинних метанауплій контрольної та усіх дослідних груп (табл. 6.2.2).

Таблиця 6.2.2

Зміни лінійних розмірів артемії при біоінкапуляції препаратами NuPro та AlgaMac Protein Plus

	доза, г/л	тривалість культивування, год	
		0	24
контроль		551,2±52,2	624,6±27,5
NuPro	0,1		630,9±36,5
	0,2		634,5±45,3
	0,4		614,63±48,5
AlgaMac Protein Plus	0,1		624,9±59,1
	0,2		627,8±30,2
	0,4		630,8±41,8

Таким чином, відсутність достовірних відмінностей у розмірах між наупліями контрольної групи та наупліями, які культивувались сумісно з досліджуваними препаратами, робить доцільним внесення NuPro та AlgaMac Protein Plus в автоматичні фідбокси з артемією в процесі вигодовування ранньої молоді риб. Проте, враховуючи результати, отримані нами при дослідженні поживної цінності та виживаності науплій при внесенні цих препаратів, задля попередження білкової депривації доцільно рекомендувати застосування препарату NuPro в концентрації 0,1 г/л при 24-годинному насиченні та AlgaMac Protein Plus в дозі 0,4 г/л протягом 18 годин біоінкапсуляції.

У біотехнології гідробіонтів набувають популярності так звані GWT-технології (green water technology). Альголізація середовища позитивно впливає на виживаність та темпи росту водних організмів на ранніх стадіях розвитку [162]. Нами показано, що внесення живої культури прісноводної зеленої водорості *Desmodesmus armatus* в автогодівниці до науплій артемії хоч і не призводить до істотного зменшення рівня їх смертності (рис. 5.2.10), проте позитивно впливає на темпи лінійного та вагового росту личинок риб.

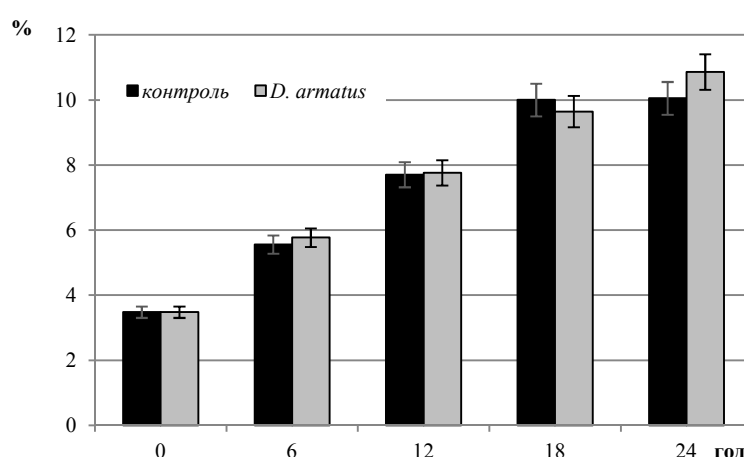


Рис. 6.2.10. Динаміка індексу кумулятивної смертності науплій артемії при їх сумісному утриманні з мікроводоростями

Так, вигодовування личинок сома європейського до переведення їх на гранульовані корми наупліями артемії сумісно з культурою зеленої водорості *D. armatus* дозволяє отримати протягом 14 діб приріст маси на 40 % більший, ніж при вигодовуванні личинок сома артемією без водоростей (рис. 6.2.11).

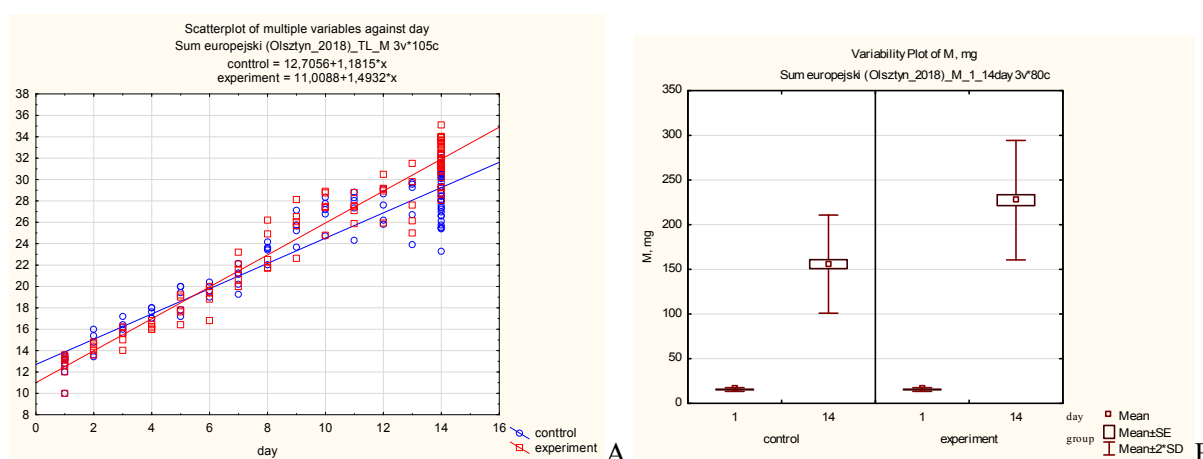


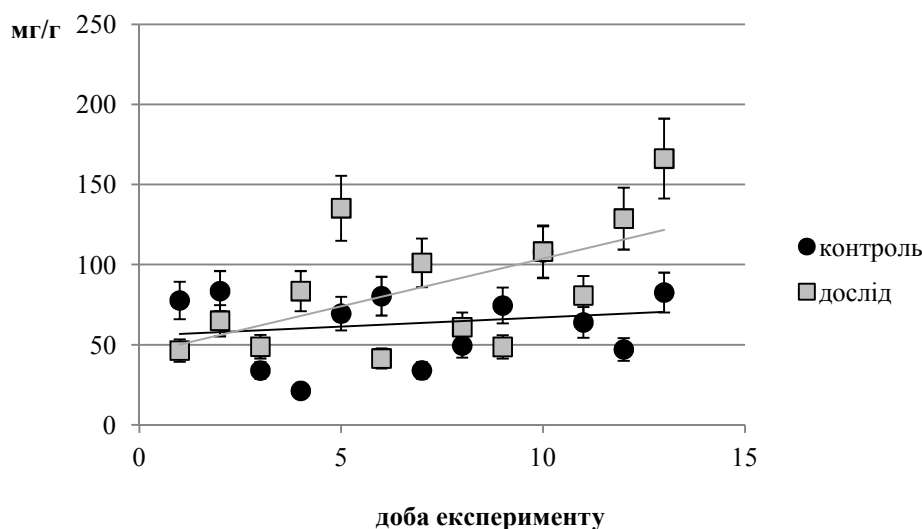
Рис. 6.2.11. Зміна загальної довжини (А) та маси тіла (Б) личинок європейського сома за умов альголізації середовища науплій артемії культурою *Desmodesmus armatus*

Такий ефект очевидно пов'язаний з тим, що водорості є джерелом не лише основних груп поживних речовин, а й есенціальних мікронутрієнтів, що істотно підвищує аліментарну цінність живих кормів [159; 161].

Варто зазначити, що підвищення рівня накопичення маси личинками сома протягом експериментального вигодовування супряжене з підвищенням рівня загального протеїну в тілі риб. Так, у кінцевому результаті, вміст білка в тканинах личинок, яких вигодовували артемією сумісно з водоростями, був майже удвічі вищим, ніж в личинок, які отримували тільки артемію (рис. 6.2.12).

В технології вирощування ранньої молоді риб, проблема якості води є пріоритетною, навіть незначне коливання значень гідрохімічних показників могут викликати масову загибель. У рибоводних установках

замкнутого водопостачання внесення додаткової органічної речовини, в тому числі кормів, негативно впливає на якість води.



6.2.12. Динаміка вмісту загальних білків у тілі личинок сома європейського за різних режимів вигодовування

Відповідно важливим є вивчення впливу біомаси водоростей, які додатково вносили з артемією, на значення основних гідрохімічних параметрів. Проведені дослідження показали, що внесення зелених мікроводоростей разом з артемією, не призводять до погіршення гідрохімічних показників (табл. 6.2.3.).

Таблиця 6.2.3

Гідрохімічні показники води в УЗВ при вирощуванні личинки сома європейського при різних режимах годівлі

Групи	Параметри	Значення	
Контроль	pH	8,3	
	T, C	24,5	
	кисень, %	79,3	
	кисень, mg O ₂ /dm ³	6,5	
		до фільтра	після фільтра
	NH ₄ ⁺ , mg/l	0,044	0,041
	NO ₂ ⁻ , mg/l	0,004	0,004
	NO ₃ ⁻ , mg/l	0,024	0,022

продовження таблиці 6.2.3

Дослід	pH	8,6	
	T, C	24,6	
	кисень, %	80,0	
	кисень, mg O ₂ /dm ³	6,6	
		до фільтра	після фільтра
	NH ₄ ⁺ , mg/l	0,041	0,036
	NO ₂ ⁻ , mg/l	0,005	0,005
	NO ₃ ⁻ , mg/l	0,016	0,009

Враховуючи вище вказане при використанні стартових живих кормів в технології переведення личинок риб на екзогенне живлення доцільно проводити альголізацію середовища, що запобігає нутрієнтній депревації кормових організмів та сприяє інтенсифікації темпів росту вирощуваних личинок риб.

6.3. Культивування прісноводного зоопланктону як стартового корму для риб та шляхи його нутрієнтної модифікації

6.3.1. Використання як альтернативного середовища для культивування кормового зоопланктону скидної води з УЗВ

У зв'язку з достатньо високою вартістю та складністю отримання цист артемії рибницькі підприємства часто як стартовий корм використовують прісноводний зоопланктон та мікроводорості. Проте, технологія культивування чистих культур фіто- та зоопланктону передбачає застосування синтетичних живильних середовищ, які є доволі вартісними, адже містять весь необхідний комплекс солей макро- та мікроелементів

[86, 164].

З огляду на це постає проблема розробки альтернативних культивацийних середовищ. Важливо, щоб такі середовища за своїм складом цілком відповідали поживним потребам гідробіонтів, які на них культивуються, зокрема, в мінеральних компонентах. Не менш суттєво, щоб новостворені культивацийні середовища дозволили б знизити собівартість технології отримання біомаси кормових гідробіонтів.

Безперервна робота рибоводних установок замкнутого водопостачання передбачає періодичну заміну частини води [12, 344]. Пропонується, що воду, яка скидається, можна використовувати як альтернативне для культивування фіто- та зоопланктону.

Як відомо, при інтенсивному вирощуванні риби в УЗВ використовують збалансовані корми, які містять повний комплекс необхідних для нормального функціонування організму риб речовин, в тому числі і мікроелементів. Певна їх кількість здатна вимиватися з кормів водою при їх перебуванні в басейнах, при неактивній харчовій поведінці вирощуваної риби. Окрім того, певна кількість біогенних елементів виділяється самими рибами в процесі обміну речовин [208].

Зауважимо, що в рециркуляційних системах риба вирощується в умовах ущільненої посадки, відповідно, концентрація біогенів та мікроелементів у оборотних водах, що поступають у фільтраційний блок з рибоводних басейнів, є досить високою. Зрозуміло, це може мати позитивний вплив на розвиток фітопланктону при його лабораторному культивуванні. У випадку з культивуванням зоопланктону важливо, щоб в такій воді концентрація потенційних токсичних сполук для живого корму була мінімальною.

Дослідження показали, що вміст розчинних форм нітрогену (NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^-) і фосфатів у скидній воді не досягає критичних значень для

розвитку зоопланктону (табл. 6.3.1). Отже, виникла доцільність оцінити можливість культивування фіто- та зоопланктону як живого корму на оборотній воді з рециркуляційної рибоводної системи.

Таблиця 6.3.1

**Фізико-хімічна характеристика різних типів середовищ для
культивування кормових гідробіонтів**

Показник	Середовище ADaM	Оборотна вода з УЗВ
Загальна мінералізація, мг/л	759,0-1023,0	371,0-477,0
Електропровідність, $\mu\text{S}/\text{cm}$	1080,0-1497,0	555,0-693,0
pH	7,5-8,2	7,0-8,0
Редокс-потенціал, мВ	191,9-229,2	211,4-213,9
O_2 , мг/л	5,0-6,5	7,5-7,8
CO_3^{2-} , мг/л	$0,018 \pm 0,003$	$0,011 \pm 0,03$
NH_4^+ , мг/л	-	$0,48 \pm 0,02$
NO_2^- , мг/л	-	$0,62 \pm 0,03$
NO_3^- , мг/л	-	$20,2 \pm 0,20$
PO_4^{3-} , мг/л	-	$0,031 \pm 0,03$
Cl, мг/л	$0,075 \pm 0,005$	$0,064 \pm 0,04$
SO_4^{2-} , мг/л	-	$0,094 \pm 0,02$
$\text{Fe}^{2+/3+}$, мг/л	-	$0,52 \pm 0,02$

Відомо, що продуктивність культури може значно варіювати залежно від складу середовища культивування. Як на скидній воді із УЗВ, так і на середовищі порівняння біомаса досліджуваних культур мікроводоростей змінювалася у залежності від тривалості культивування та досягала максимального значення у стаціонарну фазу (рис. 6.3.1.).

Впродовж перших діб культивування на скидній воді з УЗВ спостерігалася низька ростова активність усіх культур, що можна пояснити адаптацією мікроводоростей до нових умов культивування. Висока ростова активність в експоненціальну фазу росту мікроводоростей на обох досліджуваних середовищах зумовлена достатньою кількістю доступних компонентів мінерального живлення. Оптимальна тривалість

культивування складає 40 діб, після чого культури переходять у фазу відмирання. Їх ріст лімітується зменшенням доступних живильних елементів та накопиченням продуктів метаболізму в культуральній рідині. Така тенденція характерна для усіх досліджуваних видів як на скидній воді з УЗВ, так і на середовищі порівняння.

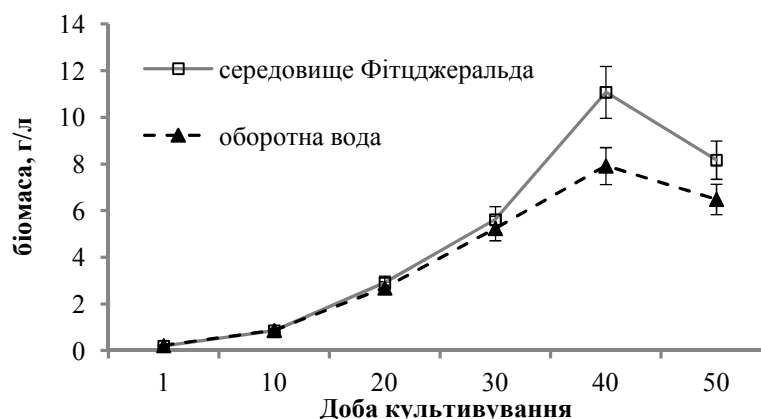


Рис. 6.3.1. Кількісні показники розвитку культури прісноводних мікрроводоростей на оборотній воді з УЗВ на прикладі *Desmodesmus armatus*

У процесі приросту біомаси активізувалися також процеси накопичення нутрієнтів, зокрема білка, ліпідів, вуглеводів, пігментів. Максимальні показники вмісту білка в досліджуваних культурах при використанні скидної води як середовища культивування коливалися в межах 55-64 % від сухої маси (табл. 6.3.2). Для контрольного середовища цей показник є дещо вищим.

Таблиця 6.3.2
Порівняльна характеристика біохімічного складу вирощених на різних середовищах культур *Desmodesmus armatus*

	Білок, %	Ліпіди, %	Вуглеводи, %	Хлорофіл <i>a</i> , мг/г	Хлорофіл <i>b</i> , мг/г	Каротиноїди, мг/г
Середовище Фітцджеральда	63,9±2,67	14,9±1,14	11,7±1,18	19,1±1,20	7,5±0,89	14,4±0,71
Оборотна вода	60,1±2,34	14,8±1,14	11,6±1,05	18,7±1,21	7,1±0,65	13,5±0,93

Подібні тенденції спостерігалися і при дослідженні кількісного вмісту ліпідів та вуглеводів при культивуванні на обох живильних середовищах. Встановлено, що абсолютно в усіх видів відсотковий вміст цих сполук достовірно не відрізнявся.

При культивуванні мікрободоростей на скидній воді спостерігали поступове збільшення кількості хлорофілу *a*, *b* (для зелених водоростей) та каротиноїдів, що сягали свого максимуму в стаціонарній фазі росту культури.

Кількість пігментів мікрободоростей залежала від особливостей накопичувального культивування та складу живильного середовища і є ще одним показником продуктивності альгокультур, оскільки залежність ефективності фотосинтезу від елементів мінерального живлення визначається їх необхідністю як для формування фотосинтетичного апарату, так і для його оновлення в процесі життєдіяльності культури.

Отже, при тривалому культивуванні, збільшення кількості клітин призводить до виснаження живильного середовища та дефіциту деяких мінеральних речовин. В той же час, спостерігається затінення культур мікрободоростей внаслідок її високої щільності, що поступово призводить до встановлених нами закономірностей накопичення пігментів на обох живильних середовищах.

Дані значення суттєво не відрізняються від контрольних показників, а умови культивування та склад скидної води є достатніми для високої продуктивності культур та не виявляють стресового навантаження на досліджувані культури. Вирощування цих альгологічно чистих культур на скидній воді є дешевим перспективним джерелом кормів чи преміксів для культивування зоопланктону.

При аналізі можливості культивування на скидній воді *Simoccephalus vetulus* була встановлена подібна динаміка щільності

культури при використанні скидної води з УЗВ та на синтетичному середовищі протягом перших 6 діб експерименту. Проте, надалі для культури, що культивувалась на синтетичному середовищі, спостерігається поступове затухання, а інтенсивний розвиток *Simocephalus vetulus* на скидній воді досягає свого максимального значення на 18-ту добу (рис. 6.3.2).

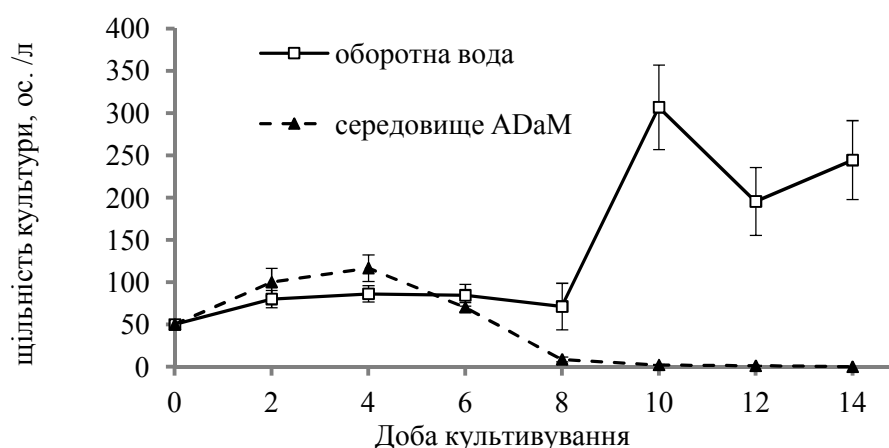


Рис. 6.3.2. Кількісні показники розвитку культур прісноводного зоопланктону на синтетичному середовищі та оборотній воді з УЗВ на прикладі *Simocephalus vetulus*

Збільшення щільності монокультури зоопланктону при вирощуванні на скидній воді, ймовірно, зумовлене присутністю у воді мікрофлори, що виступає додатковим елементом живлення для ракоподібних та сприяє їх розмноженню [331]. Окрім того, додаткове підгодовування *S. vetulus* суспензією дріжджів може стимулювати розвиток бактеріофлори, забезпечуючи цим самим додаткове підживлення *S. vetulus* [77], що дозволяє пролонгувати тривалість росту культури. Для організмів, вирощених на ADaM, найінтенсивніше збільшення чисельності відбувається на 4-у добу експерименту, після чого реєструється поступовий спад аж до повної загибелі культури на 14-у добу

культивування.

Експериментальні дослідження з культивування іншого виду зоопланктону - *M. macroscopa* на скидній воді з УЗВ показав аналогічні закономірності. Достовірна різниця в щільностях контрольної та дослідної груп відмічається з 6-ої доби культивування. Проте, максимальний показник наростання щільності культури *M. macroscopa* на скидній воді значно вищий, ніж для *Simoscephalus vetulus* (майже 14 тис. екз./л проти 580 екз./л).

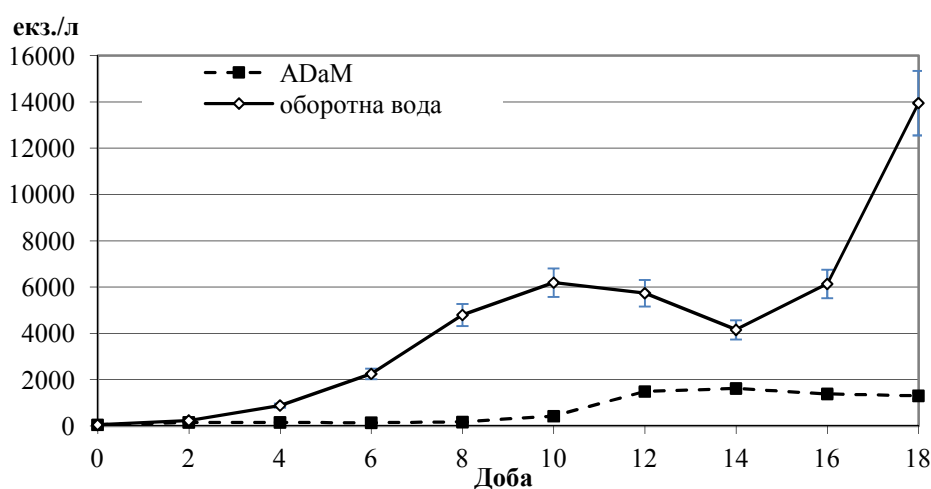


Рис. 6.3.3. Кількісні показники розвитку культур прісноводного зоопланктону на синтетичному середовищі та оборотній воді з УЗВ на прикладі *Moina macroscopa*

Отже, застосування скидної води з УЗВ сприяє підвищенню щільності монокультур *S. vetulus* та *M. macroscopa* у порівнянні з культивуванням на стандартизованому середовищі ADaM у 5 та у 8,6 разів відповідно.

Передбачається, що заміна синтетичного культиваційного середовища на скидну воду може зумовлювати певні модифікації в нутрієнтному складі культивованих гідробіонтів. Дійсно, як показали результати визначення вмісту загальних протеїнів та ліпідів в досліджуваних культурах, у *S. vetulus*, культивованій на скидній воді, майже на 20% підвищується вміст загальних протеїнів. Натомість, у

M. macroscopa нами не зареєстровано достовірних змін у вмісті основних нутрієнтів (табл. 6.3.3).

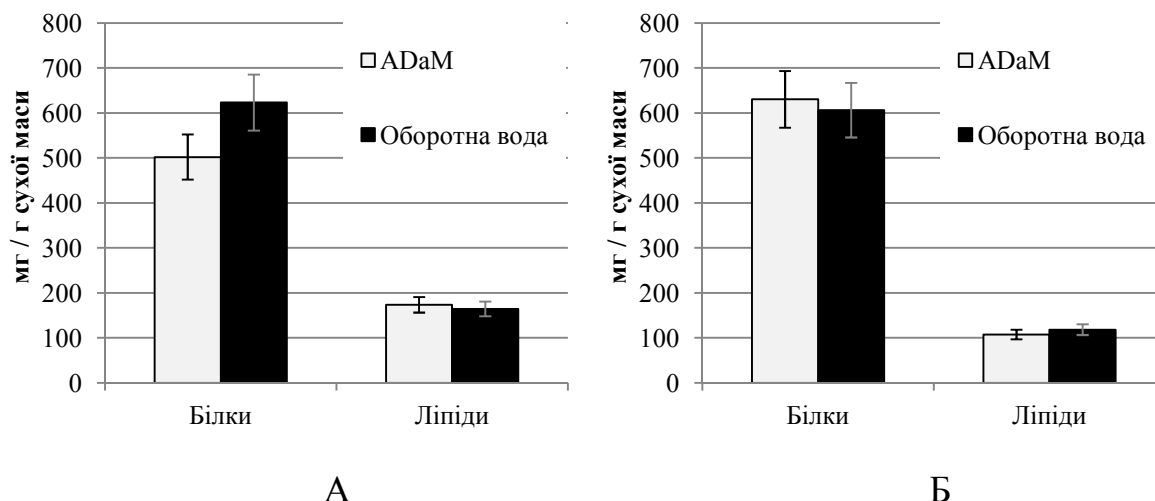


Рис. 6.3.4. Нутрієнтний склад культур прісноводного зоопланктону, отриманих на синтетичному середовищі та оборотній воді з УЗВ на прикладі *Simocephalus vetulus* (А) та *Moina macroscopa*

Таким чином, застосування скидної води з УЗВ при культивуванні кормового зоопланктону дозволяє істотно збільшити його біомасу та відтермінувати сповільнення росту культур, що чітко продемонстровано на обох досліджуваних видах – *S. vetulus us vetulus* та *M. macroscopa*. Окрім того, використання води з УЗВ як культиваційного середовища при вирощуванні *Simocephalus vetulus* та *Moina macroscopa* не призводить до погіршення поживної цінності зоопланктону.

6.3.2. Вплив γ -кротонолактон-вмісного препарату ДОН-1R на продуктивність прісноводного зоопланктону

Відомо, що у виробничих умовах важливим фактором є швидке нарощення біомаси кормових організмів у обмежений термін. Зазвичай, для швидкого нарощення біомаси того чи іншого об'єкту культивування

створюються оптимальні умови. Додаткове підвищення темпів нарощення біомаси кормових організмів може бути досягнуто використанням препаратів із стимулюючим ефектом.

Так, застосування γ -кротонолактон-вмісного препарату ДОН-1R у найменшій із досліджуваних концентрацій позитивно впливає на динаміку накопичувальної культури *Simoccephalus vetulus*, одного з представників прісноводного зоопланктону. Представники даного виду доволі крупні, значно більші за розмірами від моїн. В силу своїх значних розмірів сімоцефалюли порівняно повільно розмножуються. Відповідно, використання стимуляторів найбільш доцільне при культивуванні організмів з повільними темпами накопичення біомаси.

Свідченням позитивного ефекту від використання препарату при культивуванні кормових організмів є підвищенням темпів розмноження саме на синтетичному культиваційному середовищі ADaM, у яком відсутні всі інші заважаючі чи стимулюючі фактори (рис. 6.3.5).

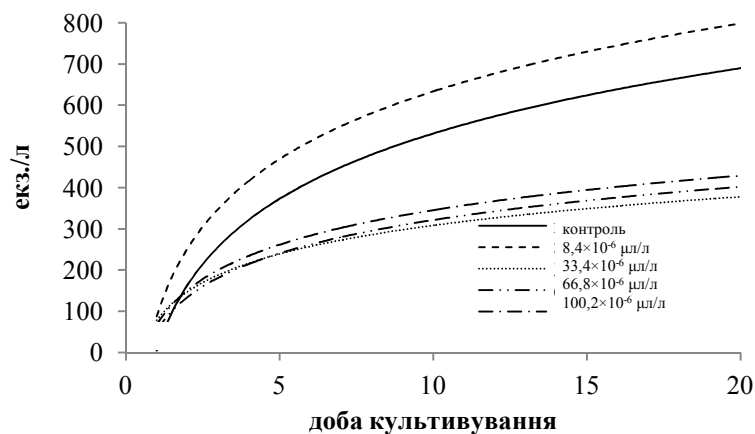


Рис. 6.3.5. Динаміка щільності культури *S. vetulus* за різних концентрацій ДОН-1R

Найвищий стимулюючий ефект при культивуванні даного виду клadoцер було отримано при застосуванні найменшої із досліджуваних концентрацій.

Аналіз вмісту основних нутрієнтів – протеїні та ліпідів в тілі

кормових організмів при культивуванні в присутності γ -кроднолактон-вмісного препарату засвідчив тенденцію до накопичення ними ліпідів та до зменшення вмісту білку. Проте, така відмінність не була статистично достовірною (6.3.6).

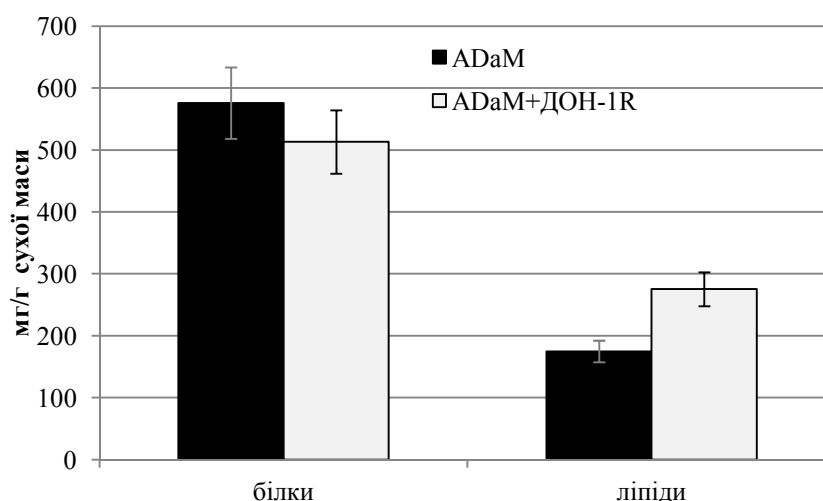


Рис. 6.3.6. Вміст протеїнів та ліпідів у *S. vetulus* при культивуванні в присутності ДОН-1R

Важливо було дослідити вплив досліджуваного препарату на формування активності гідролітичних ферментів кормового зоопланктону. Проведені дослідження показали, що даний препарат пригнічення практично усів видів гідролітичної активності (табл. 6.3.3).

Таблиця 6.3.3

Гідролітична активність у *S. vetulus* при культивуванні в присутності ДОН-1R

Види гідролітичної активності		середовище культивування	
		ADaM	ADaM+ДОН-1R
протеолітична активність, нмоль Тут/хв×мгбілка	pH 4,8	14,00±1,51	0,02±0,001*
	pH 7,4	178,00±18,12	48,75±5,01*
	pH 9,0	35,00±3,61	1,50±0,17*
ліполітична активність, нмоль/хв×мг білка		19,67±1,98	12,10±1,23
амілолітична активність, мг крохмалю/хв×мг білка		37,96±3,81	14,07±1,51*

* різниця порівняно з контролем статистично достовірна при $p \leq 0,05$

Таким чином, досліджуваний препарат доцільно використовувати для інтенсифікації нарощення біомаси кормових організмів. Проте з огляду на отримані результати щодо його впливу на гідролітичну активність, кормові організми, отримані в культиваційних середовищах з додаванням препарату, повинні витримуватись протягом деякого часу без препарату, оскільки останній пригнічує протеолітичну активність в живих кормах.

6.3.3. Біоінкапсуляція каротиноїдів у живі корми

Необхідність каротиноїдів як есенціальних сполук для розвитку гідробіонтів обумовлена вітамін А-прекурсорною, антиоксидантною та антимутагенною діями, участю у процесах статевого дозрівання та стимуляції розвитку ікри [253, 338].

Одна з найважливіших функцій каротиноїдів для тварин – про-А-вітамінна активність. Вітамін А є незамінним для зору, росту, репродукції та захисту від різних бактеріальних чи грибкових захворювань, нормального функціонування шкіри та слизових. Він не утворюється в тваринних тканинах, а може бути отриманий тільки шляхом перетворення про-А-вітамінних каротиноїдів (серед 750 ідентифікованих сполук тільки 50 володіють такою активністю). Риби не володіють здатністю до синтезу в організмі цих пігментів *de novo*, що спричиняє необхідність включення каротиноїдів до їх раціону, оскільки якісний склад та кількісний вміст каротиноїдів риб залежить від їх вмісту в кормі.

На даний час в аквакультурі використовують добавки, що містять каротиноїди як синтетичного, так і природного походження. До них відносять синтетичні чисті препарати та природні субстрати: криль, спіруліну, календулу, багаті астаксантином дріжджі *Paffia rhodozyma* та

мікроводорості *Haematococcus pluvialis*. Застосування мікробної біомаси, а також каротиновмісних препаратів для збагачення кормів білком і поживними речовинами в умовах інтенсивного тваринництва – актуальне питання сьогодення, оскільки отримання каротиноїдів із рослинних ресурсів – достатньо складне технологічне завдання. На сьогодні основними шляхами отримання каротиноїдів є хімічний та мікробний синтез. Мікробіологічне промислове виробництво каротиноїдів пов'язане із складністю технологічного процесу, що полягає у загрозі контамінації культурального середовища та строгому контролю екологічних й індуктивних факторів. Проте, в порівнянні із хімічним синтезом, цей шлях є перспективнішим у зв'язку із економічною доцільністю, а також безпечністю для навколишнього середовища.

Триває активний пошук нових продуцентів цих цінних біологічно активних речовин та методів інтенсифікації каротинсинтезуючої активності існуючих. Основна увага спрямована на отримання каротиноїдів із дріжджів, які мають ряд переваг перед бактеріями, зигоміцетними грибами та водоростями. Серед них – порівняно високі темпи росту та швидкий перехід від експоненційної до стаціонарної фази, де й відбувається накопичення цільових метаболітів; невибагливість до складу поживного середовища, що дає можливість культивувати мікроорганізми на відходах агропромислового виробництва та вторинній сировині (виноградна мезга, м'яса, гідролізат торфу, молочна сироватка, гідролізат кукурудзи тощо); високі синтетичні можливості при нормальних фізіологічних умовах. Найперспективнішими серед каротинсинтезуючих дріжджів є представники родів *Rhodotorula*, *Rhodosporidium*, *Sporobolomyces*, *Cystofilobasidium* та *Kockovaella*. Більшість із них відносяться до групи дріжджів із підвищеним вмістом ліпідів, деякі види використовуються для видалення важких металів і детоксикації

промислових стоків. Якісний склад пігментів у цих родин схожий та включає β -каротин, γ -каротин, торулін, торулародин, астаксантин [254; 272].

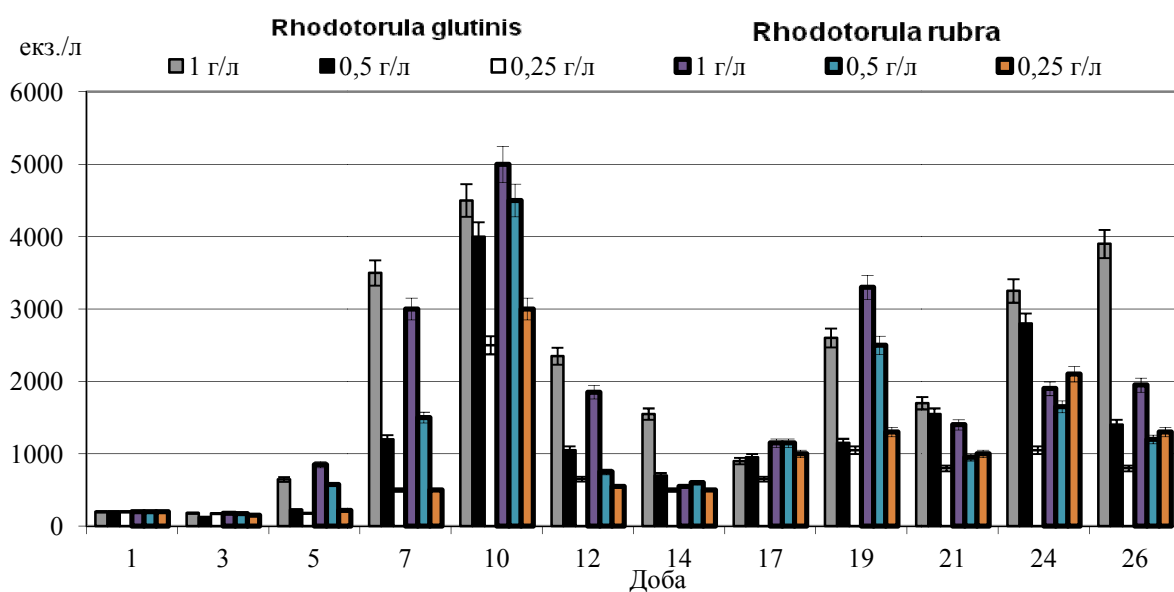
Підвищення рівня каротиноїдів у живих кормах за умов застосування каротинсинтезуючих дріжджів може слугувати альтернативним, проте дешевшим способом їх збагачення каротиноїдами, на противагу дорогим комплексним препаратам каротиноїдів промислового виробництва. Відповідно, живі корми культивували з використанням двох видів каротинсинтезуючих дріжджів *Rhodotorula glutinis* та *Rhodotorula rubra*.

Проведеними дослідження встановлено, що при всіх варіантах годівлі каротинсинтезуючими дріжджами максимальної щільності монокультури *Moina macroscopa* та *Simoccephalus vetulus* досягають на 10-ту добу культивування, після чого не тільки відсутні ознаки стабілізації росту культур, а й спостерігається зниження їх щільності (рис. 6.3.7). Також показано, що у зазначений період приріст щільності культур *Moina* та *Simoccephalus* при годівлі каротинсинтезуючими дріжджами *Rhodotorula glutinis* у 1,3 рази та у 1,5 рази, відповідно, перевищує приріст ракоподібних, що в якості кормового субстрату отримували *Rhodotorula rubra*.

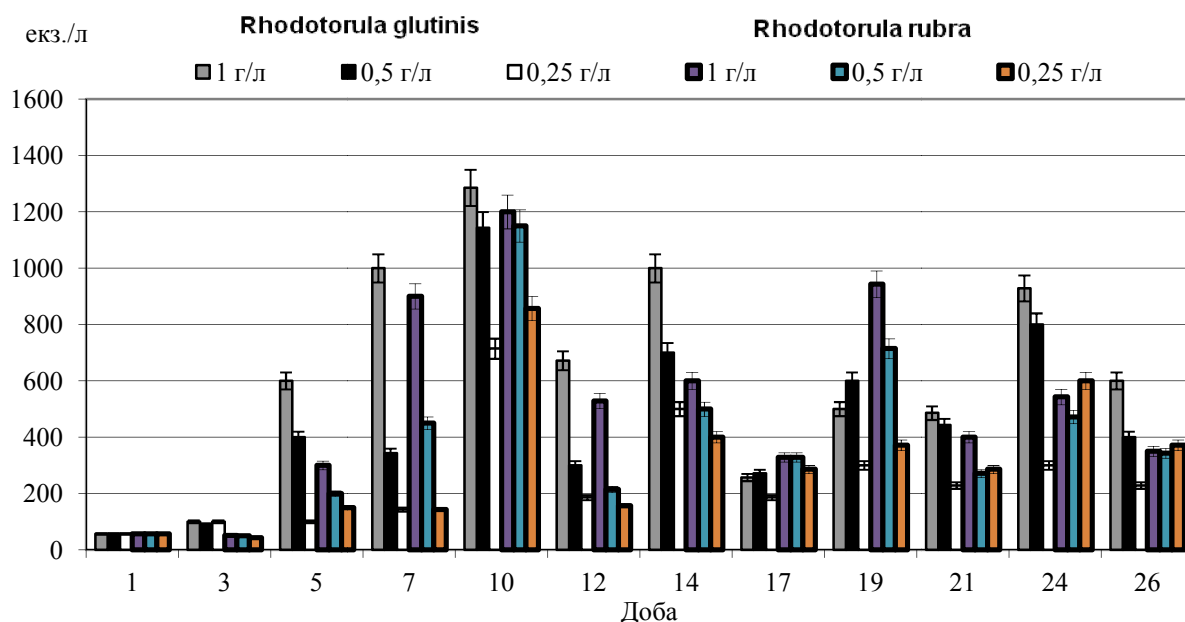
Достовірної різниці у чисельності 10-ти добових культур *Moina macroscopa* та *Simoccephalus vetulus* при вигодовуванні дріжджами *Rhodotorula rubra* у концентраціях 1,0 та 0,5 г/л не зареєстровано. Зважаючи на отримані результати, подальші дослідження проводили при застосуванні каротинсинтезуючих дріжджів *Rhodotorula glutinis* і *Rhodotorula rubra* у концентрації 0,5 г/л протягом 10 діб культивування зоопланктону.

Позитивний ефект від застосування каротиногенних дріжджів підтверджується результатами порівняльних досліджень із використанням

традиційного в аквакультурі кормового субстрату – дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* – та середовища ADaM. За цих умов для монокультур як моїн, так і сімоцефалюсів вже на 6-ту добу експерименту відмічається сповільнення росту аж до її повного відмирання (рис. 6.3.8, А, Б).



А



Б

Рис. 6.3.7. Щільність культур *Moina macroscopa* (А) та *Simoccephalus vetulus* (Б) при використанні каротинсинтезуючих дріжджів

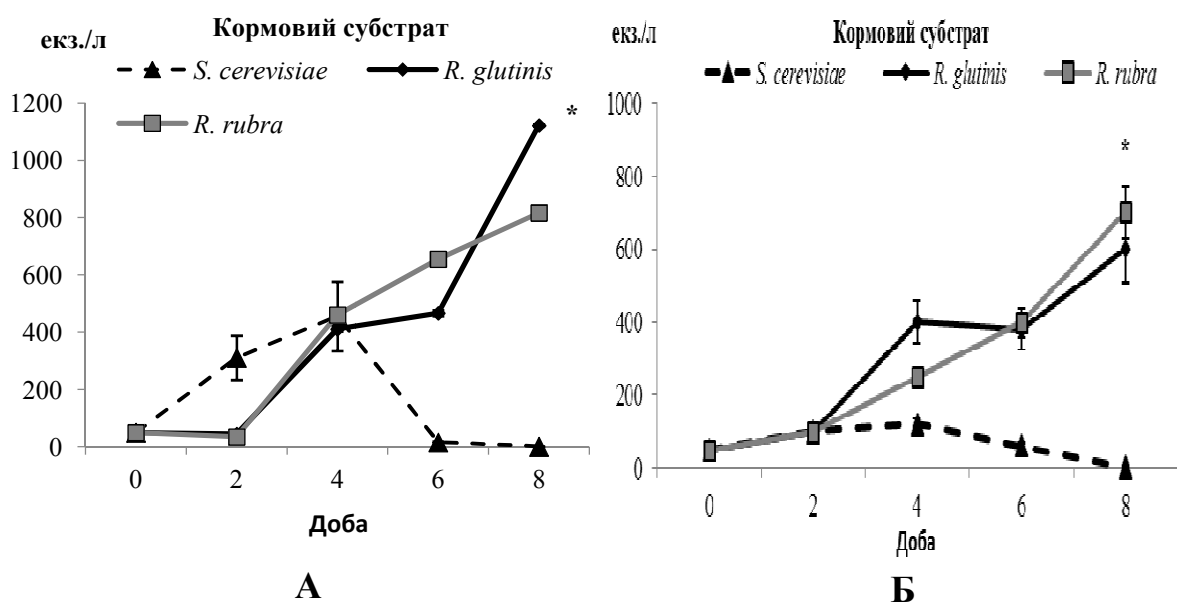


Рис. 6.3.8. Зміна щільності культур *Moina macroscopa* (А) та *Simocephalus vetulus* (Б) при застосуванні каротинсинтезуючих дріжджів *Rhodotorula*

* різниця, в порівнянні з контрольною групою, статистично достовірна при $p \leq 0,05$.

Важливо, щоб в процесі безперервного культивування кормового планктону фізико-хімічні показники середовища не зазнавали різких змін. Встановлено, що при культивуванні *Moina macroscopa* на кінцевих етапах дослідження спостерігається поступове зростання рівня електропровідності та загальної мінералізації культиваційного середовища (рис. 6.3.5, А, Б). Ймовірно, одержаний результат зумовлений тим, що безперервне культивування без очистки чи оновлення культиваційного середовища супроводжується нагромадженням кінцевих продуктів метаболізму. Саме ця причина, ймовірно, спричиняє пригнічення росту контрольної культури *Moina macroscopa* та *Simocephalus vetulus* після 4 доби культивування (рис. 6.3.9, А, Б). Натомість, значення рН та окисно-відновного потенціалу у всіх досліджуваних групах були незмінними (рис. 6.3.9, В, Г).

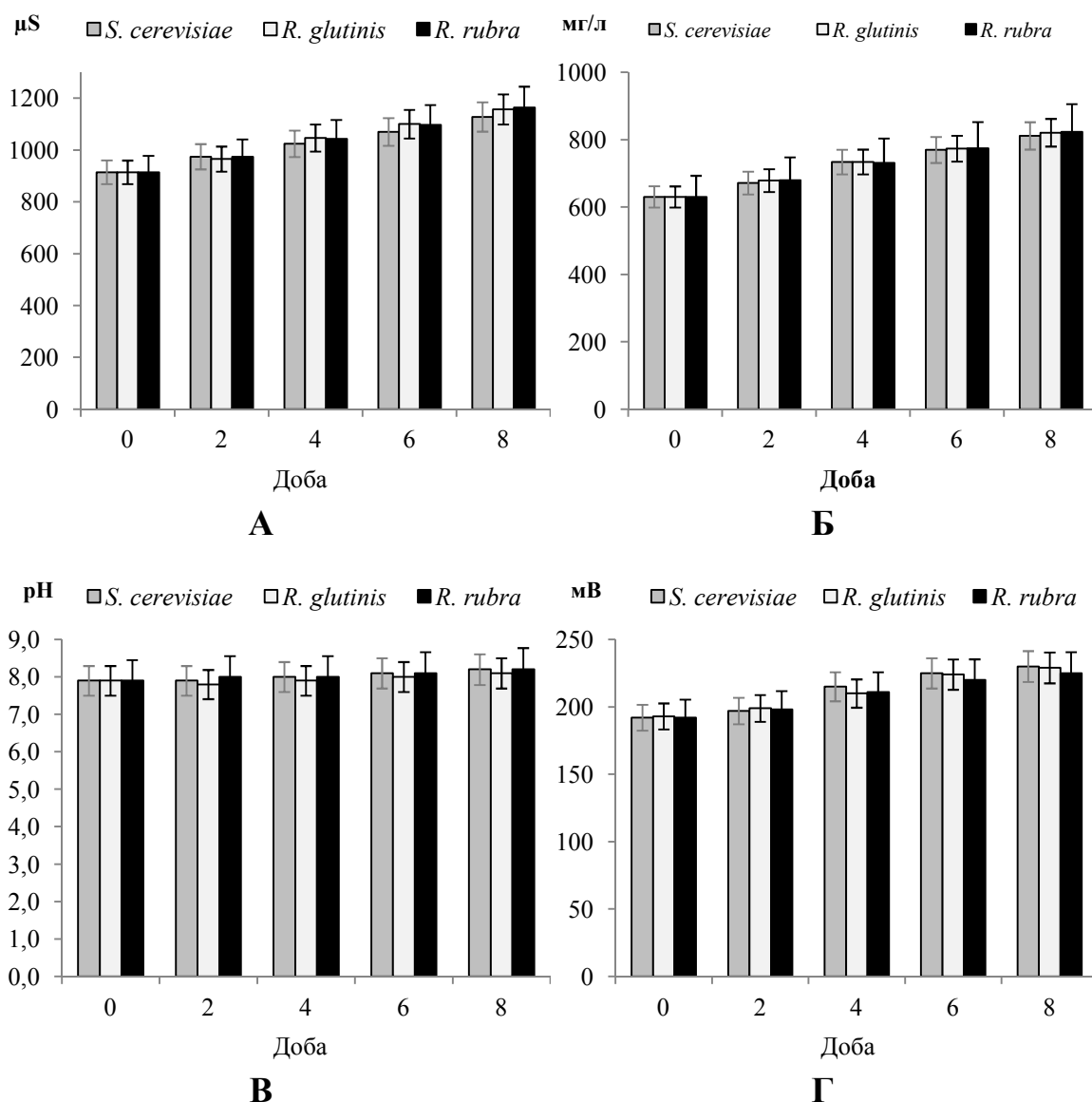


Рис. 6.3.9. Зміни фізико-хімічних характеристик середовища ADaM (А – електропровідність; Б – загальна мінералізація; В – pH; Г – редокс-потенціал) при культивуванні *M. macroscopa* та *S. vetulus* з використанням каротинсинтезуючих дріжджів *Rhodotorula*

Важливо, щоб вирощування зоопланктону із застосуванням каротиновмісних дріжджів в кінцевому рахунку спричиняло накопичення в їх тілі цільового продукту – каротиноїдів. Застосування каротинсинтезуючих дріжджів в якості кормового субстрату для *Moina macroscopa* супроводжується накопиченням каротиноїдів даною культурою (рис. 6.3.10, А). Причому максимальні показники вмісту

сумарних каротиноїдів (14 мг/г сухої речовини) були досягнуті на 4-ту добу культивування моїн за умов використання *Rhodotorula glutinis*. За цих умов вміст загальних каротиноїдів у моїн був вищим майже у 1,5 рази, ніж при застосуванні *Rhodotorula rubra*. Ймовірно, це зумовлено значно вищою каротинсинтезуючою активністю *Rhodotorula glutinis* у порівнянні з *Rhodotorula rubra* [44].

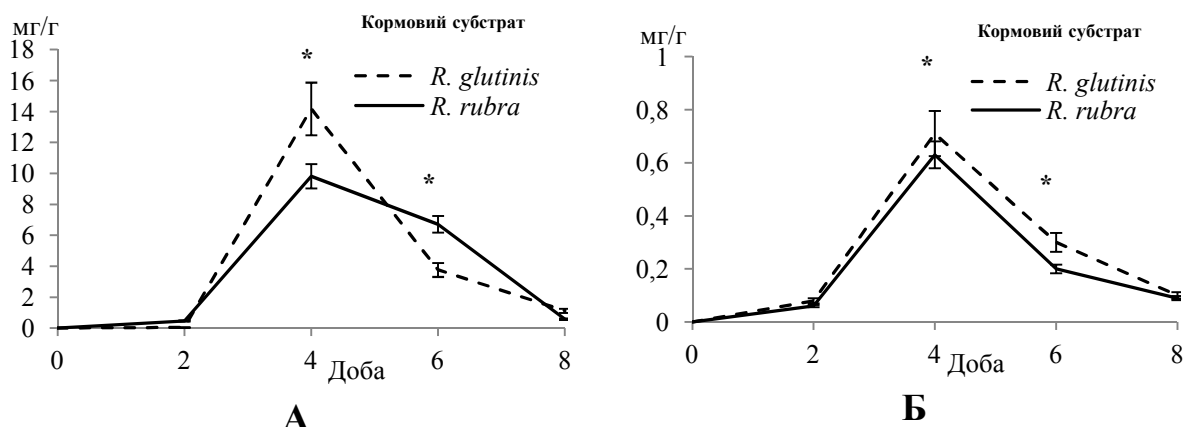


Рис. 6.3.10. Рівень загальних каротиноїдів у *Moina macroscopa* (А) та *Simocephalus vetulus* (Б) при застосуванні каротинсинтезуючих дріжджів *Rhodotorula*

* відмінності між групами статистично достовірні при $p \leq 0,05$.

Слід зауважити, що моїни при культивуванні з родоторулами накопичують каротиноїди набагато ефективніше. Так, показники вмісту загальних каротиноїдів у *Moina macroscopa* майже в 10 разів вищі, ніж за відповідних умов у *Simocephalus vetulus* (рис. 6.3.10, Б).

Запасання каротиноїдів у організмі ракоподібних відбувається в стінках кишечника [217; 311], у жирових клітинах та яйцях, інколи їх присутність відмічається і у максилярних залозах та у крові, проте у епідермісі та кутикулі вони відсутні. Більше того, їх вміст у організмі зоопланктону залежить від типу кормового субстрату, а також від фізіологічного стану самого організму. Так, підвищення вмісту каротиноїдів відмічається по мірі дозрівання організму та формування яєць [207].

Відомо, що одна з основних функцій каротиноїдів – антиоксидантна. Переважна більшість каротиноїдів проявляють антиоксидантні властивості (зокрема β -каротин). Такий ефект пов'язаний з його здатністю блокувати утворення синглетного кисню – $^1\text{O}_2$, поглинаючи енергію збудженого електрона без будь-яких хімічних перетворень та повертаючи його в основний (триплетний) стан без пошкодження навколишніх біологічних систем. Також вони захищають клітинні структури від впливу пероксидних радикалів, віддаючи або приєднуючи електрони, зв'язуючи вільні радикали у місці подвійного зв'язку чи переносячи H^+ від молекули каротиноїда. Антиоксидантні властивості каротиноїдів зумовлюють їхню фотозахисну, радіопротекторну, антимуtagenну й антиканцерогенну дію [326].

Нами показано, що після досягнення свого максимального рівня рівень каротиноїдів в організмі зоопланктону не залишається стабільним, а починає знижуватись, навіть попри те, що вони продовжують отримувати в їжу каротинсинтезуючі дріжджі. Ймовірно, це може бути пов'язано з активним залученням каротиноїдів у механізми активації антиоксидантних систем захисту організму від вільнорадикального окислення біомолекул, викликаного погіршенням якості культиваційного середовища. Дійсно, нами встановлено, що застосування каротинсинтезуючих дріжджів при культивуванні зоопланктону на середовищі ADaM супроводжується підвищенням антиоксидантної активності у досліджуваних організмах *Moina macroscopa* та *Simoccephalus vetulus* (рис. 6.3.11).

Зауважимо, що застосування каротинсинтезуючих дріжджів роду *Rhodotorula* в якості кормового субстрату дозволяє максимально підвищити рівень каротиноїдів у живому кормі вже на 4-ту добу культивування. Очевидно, триваліше культивування кормового зоопланктону на каротинсинтезуючих дріжджах є недоцільним.

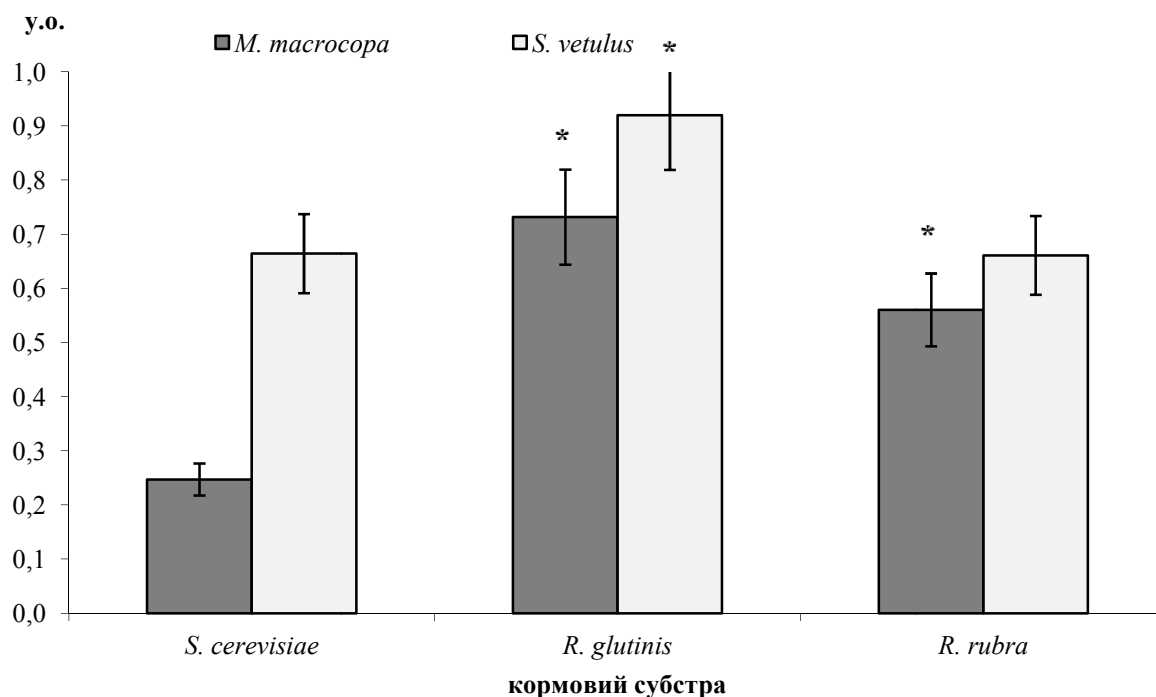


Рис. 6.3.11. Рівень антиоксидантної активності культур *Moina macroscopa* та *Simocephalus vetulus* при культивуванні на середовищі ADaM з використанням каротинсинтезуючих дріжджів *Rhodotorula*
 * відмінності, в порівнянні з контрольною групою, статистично вірогідні при $p \leq 0,05$.

Відомо, що серед загальної кількості синтезованих каротиноїдів у клітинах родоторул найбільшу частку займають β -каротин, торулін (3',4'-дидегідро- β - ψ -каротин), торулародин (3',4'-дидегідро- β - ψ -каротин-16'-ова кислота). Їх кількісний вміст значною мірою залежить від умов культивування мікроорганізмів. Для деяких видів, наприклад у *R. glutinis*, характерний синтез γ -каротину (β - ψ -каротин) у кількості 11-15% від загального виходу тетратерпеноїдів. Накопичення пігментів починається наприкінці експоненційної фази та продовжується у стаціонарній фазі

Методом тонкошарової хроматографії, застосовуючи різні системи розчинників, нами було визначено фракційний склад каротиноїдів у кормовому зоопланктоні після його вирощування з родоторулами. Найбільш ефективною виявилася система розчинників гексан-ацетон (7:3), при застосуванні якої у *Simocephalus vetulus* було ідентифіковано 10

фракцій каротиноїдів (табл. 6.3.4).

Таблиця 6.3.4

Якісний склад та кількісний вміст каротиноїдів у *Moina macroscopa* і *Simosephalus vetulus* при застосуванні як кормового субстрату каротинсинвмічних дріжджів *Rhodotorula*

Фракція каротиноїдів <i>Moina macroscopa</i> , %	Кормовий субстрат		Фракція каротиноїдів <i>Simosephalus vetulus</i> , %	Кормовий субстрат	
	<i>Rhodotorula glutinis</i>	<i>Rhodotorula rubra</i>		<i>Rhodotorula glutinis</i>	<i>Rhodotorula rubra</i>
β-каротин	0,060±0,002	0,110±0,007	β-каротин	9,674±0,822	10,721±0,916
ехіненон	0,050±0,001	0,090±0,004	ехіненон	11,761±1,235	9,241±0,901
ζ-каротин	0,041±0,002		4-кет-α-каротин	13,83±1,121	14,782±1,234
моноестери атаксантину	27,842±2,543	47,051±5,211	діестери атаксантину	13,372±1,223	14,101±1,266
астацен		0,050±0,001	моноестери атаксантину	13,971±1,018	14,812±1,320
кантаксантин	31,250±2,759	52,590±5,231	астацен	13,803±1,140	11,133±1,032
атаксантин	40,710±3,856	0,043±0,001	кантаксантин	2,751±0,197	4,487±0,399
лютеїн	0,062±0,002	0,081±0,002	атаксантин	11,386±1,030	10,755±0,998
Σ каротинів	0,1	0,2	лютеїн	7,282±0,533	7,415±0,654
Σ ксантофілів	99,9	99,8	зеаксантин	2,181±0,197	2,531±0,201
			Σ каротинів	35,3	34,7
			Σ ксантофілів	64,7	65,3

Профіль каротиноїдів у *S. vetulus* не відрізнявся при застосуванні обох видів каротиногенних дріжджів і був представлений: β-каротином (Rf 0,97), ехіненоном (Rf 0,89), 4-кет-α-каротином (Rf 0,77), діестерами атаксантину (Rf 0,64), моноестерами атаксантину (Rf 0,46), астаценом (Rf 0,43), кантаксантином (Rf 0,38), вільним атаксантином (Rf 0,30), лютеїном (Rf 0,20) та зеаксантином (Rf 0,14).

В складі сумарних каротиноїдів у *Moina macroscopa* зареєстровано 7 фракцій. При використанні в якості кормового субстрату *Rhodotorula*

glutinis: β -каротин (Rf 0,97), ехіненон (Rf 0,89), ζ -каротин (Rf 0,83), моноестери астаксантину (Rf 0,46), кантаксантин (Rf 0,38), вільний астаксантин (Rf 0,30) та лютеїн (Rf 0,20); при застосуванні *Rhodotorula rubra* - астацен (Rf 0,44) та всі вище перелічені каротиноїди, окрім ζ -каротину.

Кількісний аналіз вмісту окремих фракцій каротиноїдів у досліджуваних культурах зоопланктону при застосуванні обох видів каротинсинтезуючих дріжджів показав вагому перевагу ксантофілів над каротинами як у *Moina macroscopa* (99,9% ксантофілів), так і у *Simoccephalus vetulus* (65% ксантофілів). Оскільки ксантофіли засвоюються рибами краще, ніж каротини [80, 275] такий живий корм має виключну цінність у аквакультурі, оскільки цілком відповідає потребам риб на ранніх етапах розвитку. Ідентифіковані нами ксантофіли раніше були виявлені в печінці та кишечнику осетрових риб [169], що дозволяє припустити їх потребу саме в цих каротиноїдах.

Каротинсинтезуючі дріжджі є високобілковим кормом. З іншого боку, *Rhodotorula* належать до олійних дріжджів, які здатні продукувати і накопичувати більше 20 % ліпідів у перерахунку на суху речовину. Відсоток вмісту ліпідів може перевищувати половину маси сухої речовини, причому простежується кореляція між накопиченням жирів та каротиноїдів. У складі синтезованих ліпідів переважає олеїнова кислота (її вміст може становити більш ніж 60 %), серед інших – пальмітинова, лінолева та ліноленова жирні кислоти. У невеликих кількостях зустрічається стеаринова кислота (до 10 %)

Виходячи з вище вказаного, було припущено, що активне накопичення зоопланктоном каротиноїдів може призвести до перерозподілу співвідношень окремих нутрієнтів та зменшити поживну цінність планктону. Відповідно, нами було досліджено вплив

вигодовування кормових організмів двома видами родторул на вміст основних нутрієнтів, що визначають поживну цінність живого корму - загальних протеїнів і загальних ліпідів (рис. 6.3.8).

Аналіз нутрієнтного складу *Moina macroscopa* при використанні *Rhodotorula rubra* показав незначне зменшення вмісту загальних протеїнів (на 12%) та зростання вмісту загальних ліпідів (на 11%), порівняно з контролем, що, однак, не становить достовірної відмінності (рис. 6.3.12, А). Застосування дріжджів *Rhodotorula glutinis* також не знижує поживної цінності *Moina macroscopa*, оскільки вміст загальних протеїнів та ліпідів у вказаній групі достовірно не відрізняється від контрольних значень.

Дослідження вмісту загальних протеїнів та ліпідів *Simoccephalus vetulus* засвідчило, що використання дріжджів *Rhodotorula glutinis* та *R. rubra* як кормових субстратів не призводить до зниження поживної цінності культивованого зоопланктону (рис. 5.3.12, Б). Поживна цінність зоопланктону для риб на ранніх етапах розвитку визначається не тільки високим вмістом протеїнів у живому кормі, а й тим, що 50-70% білка знаходиться в розчинній формі, при чому значна його частина представлена у вигляді продуктів білкового обміну – низькомолекулярних пептидів і вільних амінокислот [80, 93].

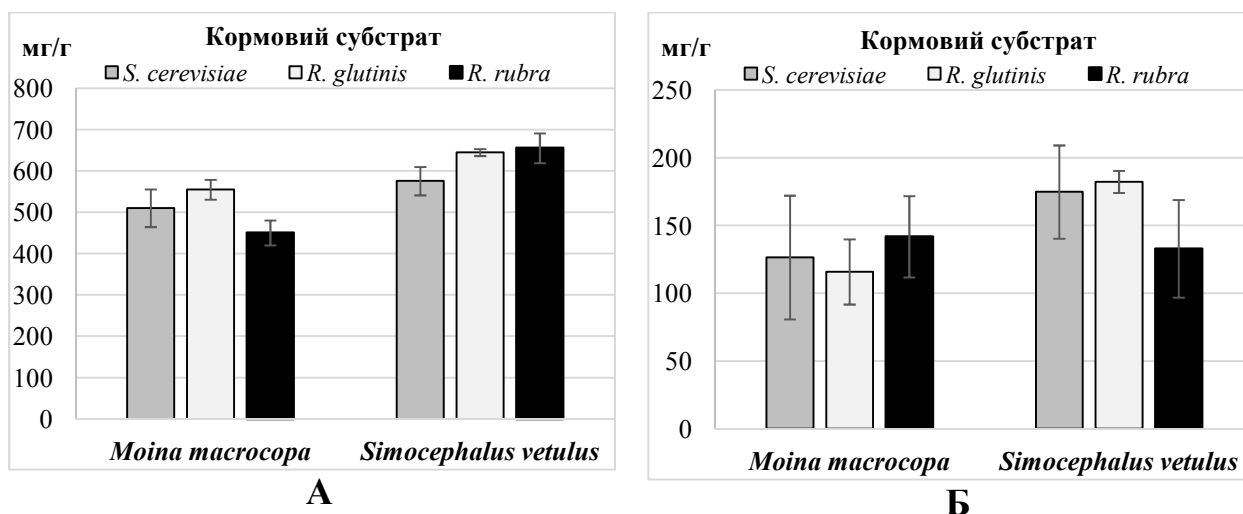


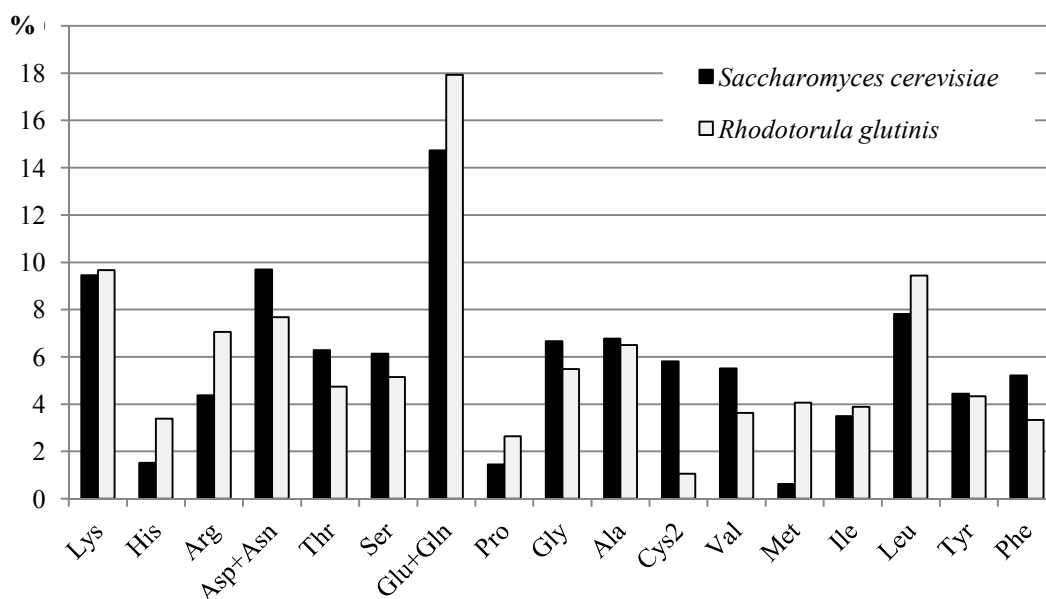
Рис. 6.3.12. Рівень загальних білків (А) та ліпідів (Б) у *Moina macroscopa* і *Simoccephalus vetulus* при використанні дріжджів *Rhodotorula*

Збалансованість корму за амінокислотним складом для організму риб у період інтенсивного росту є одним з основних факторів виживаності та подальшого нормального розвитку. Заміна дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* на каротинсинтезуючі у процесі культивування *Simoccephalus vetulus* призводить до істотної зміни співвідношення вмісту протеїногенних амінокислот досліджуваних ракоподібних. Зокрема, підвищується частка метіоніну, гістидину та аргініну (рис. 6.3.13 А).

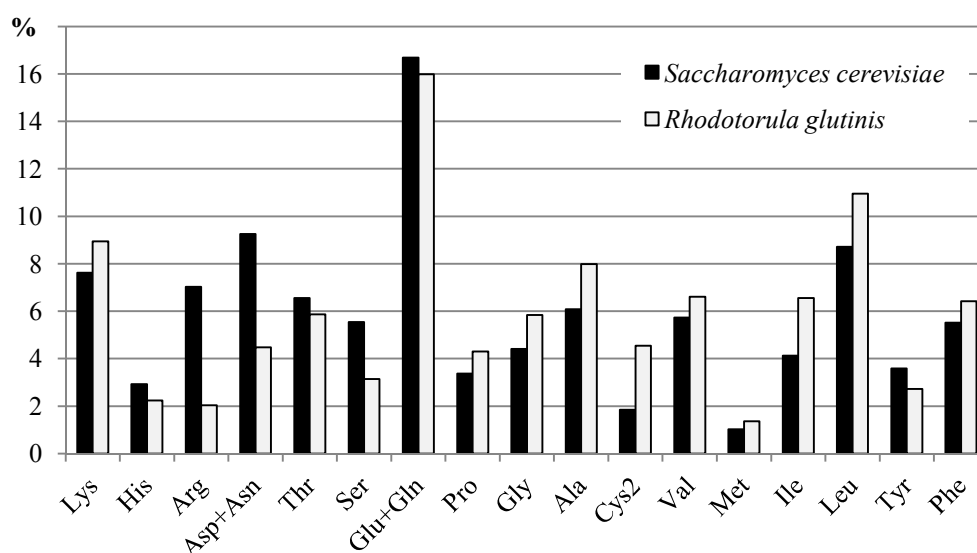
Відомо, що для біомаси *Saccharomyces cerevisiae* характерний низький вміст амінокислот метіоніну та гістидину [80], ймовірно, це і зумовлює встановлений нами низький рівень вказаних амінокислот у вирощуваних сахароміцетах організмів (рис. 6.3.13 А, Б). Біологічна роль метіоніну та серину в організмі риб зводиться до їх участі в утворенні цистеїну, для компенсації дефіциту останнього [357]. Загалом, нестача сукупного вмісту метіоніну та цистеїну призводить до зниження загальної життєздатності риб [80].

Культивування *Simoccephalus vetulus* з використанням *Rhodotorula glutinis* супроводжується зростанням кількісного вмісту не лише метіоніну, а й гістидину та аргініну (рис. 6.3.13, А) – амінокислот, яких організм риб особливо потребує у період активного росту [80].

З огляду на подібність амінокислотного складу дріжджів та моїн [230] використання дріжджів, зокрема морських, як кормового субстрату є доцільним і для *Moina macroscopa*. Так, нами встановлено, що при культивуванні моїн заміна дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* на *Rhodotorula glutinis* супроводжується збільшенням рівня метіоніну, ізолейцину та лейцину (рис. 6.3.13 Б), похідні яких, зокрема β -гідроксил- β -метил-бутират, мають стимулюючий вплив на стан імунної системи та ростові процеси [332].



А



Б

Рис. 6.3.13. Амінокислотний профіль *Simocephalus vetulus* (А) та *Moina macroscopa* (Б) при застосуванні різних кормових субстратів, $M \pm m$, $n=3$

Якість кормів, у тому числі й живих, у великій мірі залежить від їх амінокислотного профілю, особливо від наявності достатньої кількості незамінимих амінокислот. Їх частка в кормовому протеїні повинна складати не менше 50% [80]. Як видно з результатів проведених досліджень амінокислотні профілі *Simocephalus vetulus* і *Moina macroscopa*,

виращених як на *Saccharomyces cerevisiae*, так і на *Rhodotorula glutinis* відповідає вказаним вимогам (рис. 6.3.13 А, Б).

Таким чином, використання *Rhodotorula glutinis* як кормового субстрату при культивуванні *Simosephalus vetulus* супроводжується підвищенням вмісту загальних протеїнів у досліджуваній культурі і зростанням масової частки гістидину, аргініну та метіоніну. У той час як культивування *Moina macroscopa* на вказаних дріжджах хоч і не призводить до суттєвого підвищення вмісту білка, однак дозволяє акумулювати більше метіоніну, лейцину та ізолейцину. Окрім того, застосування каротинсинтезуючих дріжджів *Rhodotorula glutinis* не порушує встановленого у культивованому живому кормі оптимального для риб співвідношення замінних та незамінних амінокислот.

Широке використання живих кормів у аквакультурі зумовлене не тільки перевагами їх нутрієнтного складу [136], а й вмістом комплексу гідролітичних ферментів [173]. На початкових етапах розвитку личинок риб травна система характеризується низькою ензиматичною активністю. У зв'язку з цим, травлення у риб при переході на зовнішнє живлення значною мірою забезпечується гідролітичними ферментами спожитого живого корму, які забезпечують автоліз [80]. Окрім того, екзогенне надходження гідролаз у кишечник личинок може викликати додаткову активацію низки власних протеїназ шляхом обмеженого протеолізу зимогенів [245]. Споживання зоопланктону може позитивно вплинути на формування загального ензиматичного фону кишечника молоді риб [276]. Зважаючи на це, було прослідковано вплив каротинсинтезуючих дріжджів на гідролітичну активність у *Moina macroscopa* та *Simosephalus vetulus* як перспективних кормових об'єктів для риб (рис. 6.3.14).

У *Cladocera*, як і в інших ракоподібних, у травному тракті найвища протеїназна активність при нейтральних і лужних значеннях рН [356], що

також чітко прослідковується при культивуванні зоопланктону на сахароміцетах (рис. 5.3.14).

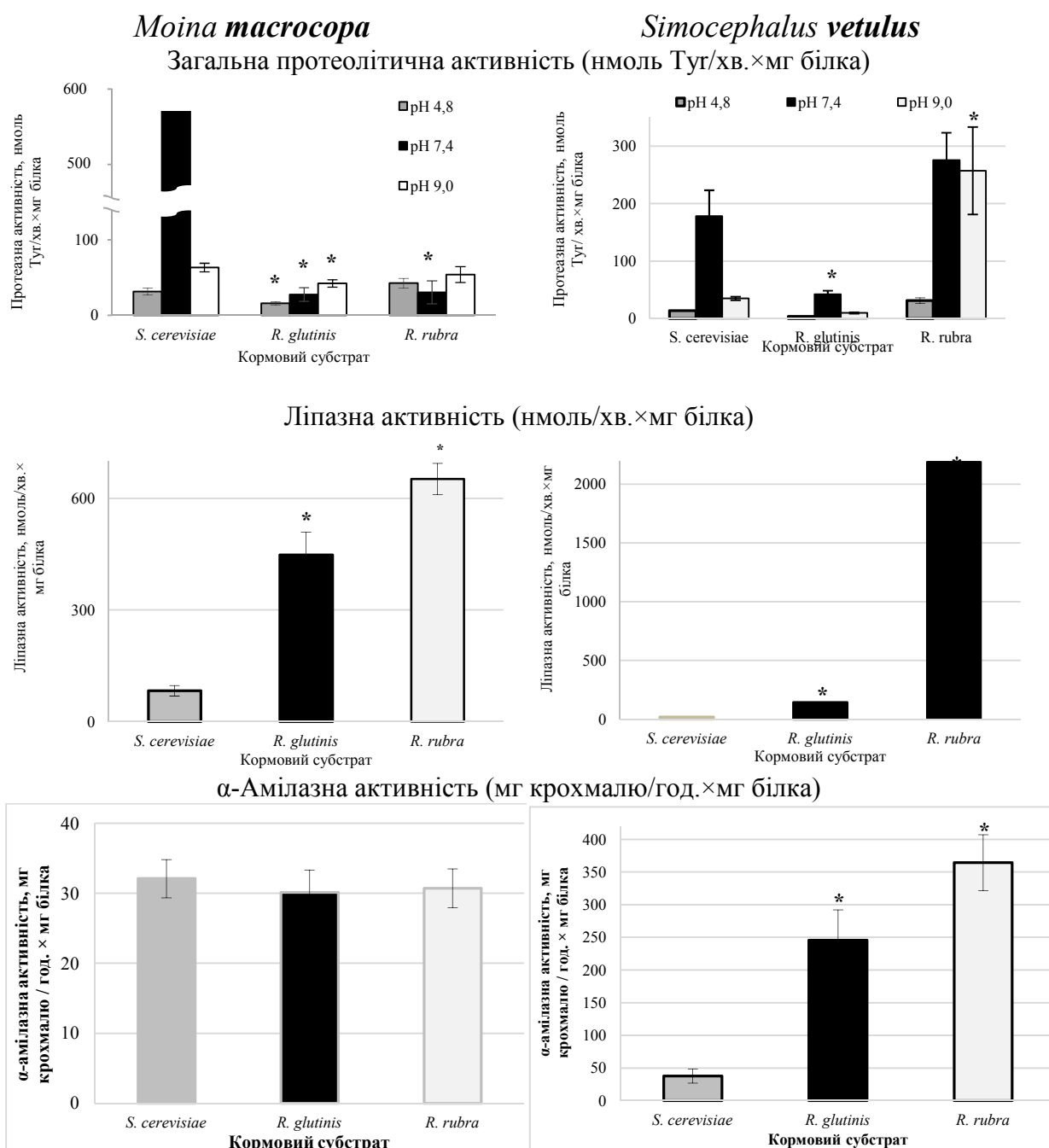


Рис. 6.3.14. Рівень гідролітичної активності у *Moina macroscopa* та *Simoccephalus vetulus* при використанні різних кормових субстратів
* різниця, в порівнянні з контрольною групою, достовірна при $p \leq 0,05$.

Використання *Rhodotorula rubra* замість сахароміцет призвело до незначного підвищення загальної протеолітичної активності у *Simoccephalus vetulus*. Натомість, *Rhodotorula glutinis* як продуцент

інгібітора карбоксипептидаз [216], викликає пригнічення загальної протеолітичної активності у *Simocephalus vetulus*. У випадку ж з *Moina macroscopa*, застосування каротинсинтезуючих дріжджів обох видів викликає інгібування загальної протеазної активності.

Загальновідомою є пряма залежність між ензиматичною активністю та кількістю перетворюваного субстрату. Тому підвищення ліполітичної активності у досліджуваних ракоподібних за умови використання *Rhodotorula glutinis* та *Rhodotorula rubra* може бути пов'язана із суттєвим накопиченням цими дріжджами ліпідів [182].

Заміна *Saccharomyces cerevisiae* на каротинвмісні дріжджі в раціоні монокультури *Simocephalus vetulus* призвела до істотного зростання амілолітичної активності. Споживання живих кормів із таким підвищеним рівнем амілазної активності може сприяти ефективнішому переходу риб на штучні корми із значним вмістом інгредієнтів рослинного походження. Однак, вплив вигодовування *Moina macroscopa* каротинсинтезуючими дріжджами на активність α -амілази не спостерігався.

Таким чином, накопичення каротиноїдів, у тому числі ксантофілів, культурами *Moina macroscopa* та *Simocephalus vetulus* вже на 4 добу дозволяє скоротити термін пасажування зоопланктону на каротинсинтезуючих дріжджах з 26 до 4 діб. Застосування каротинсинтезуючих дріжджів *Rhodotorula glutinis* дозволяє в 1,5 рази ефективніше накопичувати каротиноїди живим кормом, ніж при використанні дріжджів *Rhodotorula rubra*. При цьому вміст основних нутрієнтів не змінюється, а оптимальне для риб співвідношення замінних та незамінних амінокислот у живому кормі не порушується. Введення в раціон *Simocephalus vetulus* дріжджів роду *Rhodotorula* забезпечує підвищення ліпазної та амілазної активності живого корму.

Оскільки культури досліджуваних видів зоопланктону

характеризуються зростанням щільності при культивуванні на оборотній воді та активно накопичують каротиноїди при застосуванні каротинсинтезуючих дріжджів, прослідковано вплив цих двох факторів при одночасному застосуванні (рис. 6.3.15, А, Б).

Встановлено, що заміна традиційного культиваційного середовища на оборотну воду при використанні каротинсинтезуючих дріжджів *R. glutinis* та *R. rubra* у попередньо визначеній оптимальній концентрації (0,5 г/л) суттєво не позначилася на динаміці наростання культур зоопланктону.

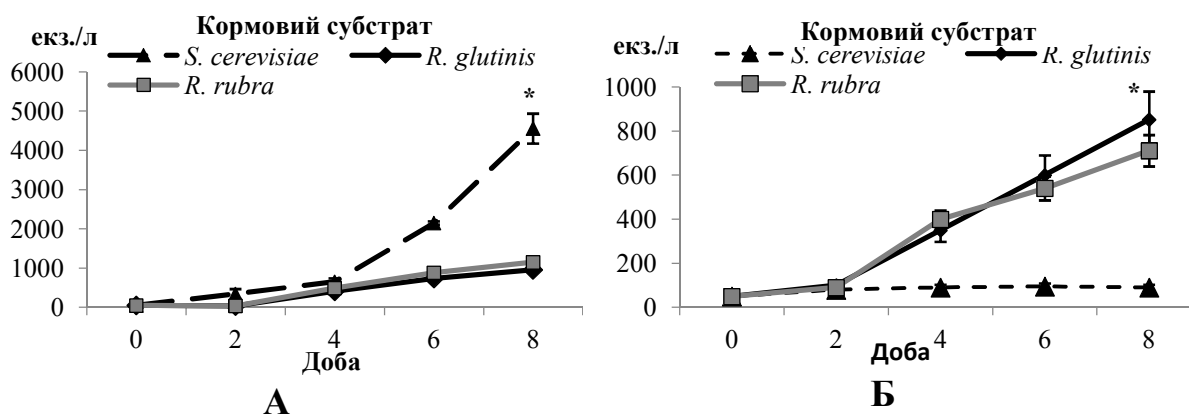


Рис. 6.3.15. Щільність культур *Moina macroscopa* (А) та *Simocephalus vetulus* (Б) при їх культивуванні на оборотній воді з використанням каротинсинтезуючих дріжджів *Rhodotorula*

* різниця, в порівнянні з контрольною групою, статистично достовірна при $p \leq 0,05$.

Окрім того, при застосуванні каротинсинтезуючих дріжджів обох видів спостерігається подібна динаміка наростання культур *Moina macroscopa*, так і *Simocephalus vetulus*. Заміна синтетичного культиваційного середовища ADaM на оборотну воду з рибоводної установки замкнутого водопостачання не призводить до погіршення динаміки наростання щільності монокультур ракоподібних тому, що разом із рибним кормом у воду надходять всі необхідні для нормального розвитку зоопланктону компоненти. Використання скидної води з УЗВ дозволяє знизити собівартість технології культивування живого корму.

Аналіз фізико-хімічних показників скидної води при культивуванні *Simosephalus vetulus* з використанням каротинсинтезуючих дріжджів (рис. 6.3.16) показав аналогічну тенденцію, описану для середовища ADaM у попередньому підрозділі (рис. 6.3.9). При культивуванні *Moina macroscopa* з зміни були такими ж.

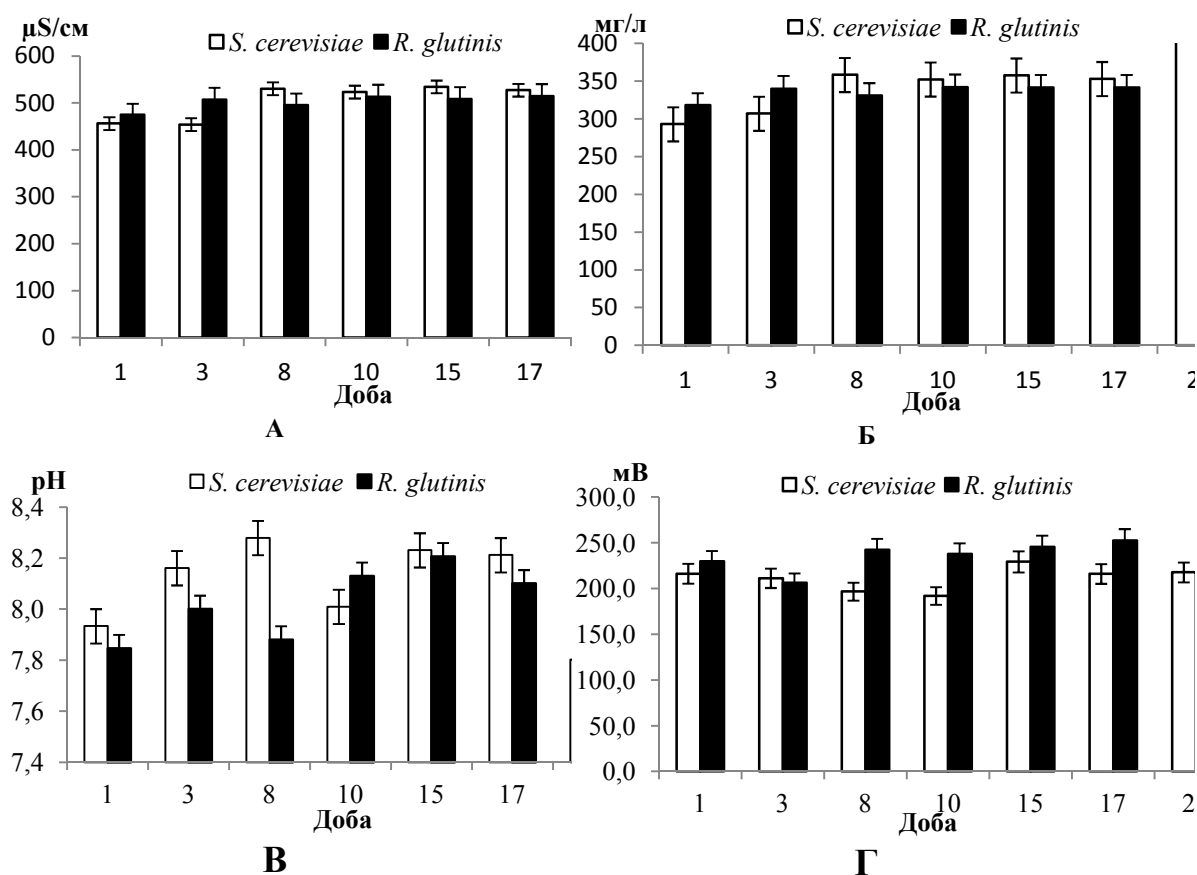


Рис. 6.3.16. Фізико-хімічні характеристики скидної води (А – електропровідність; Б – загальна мінералізація; В – pH; Г – редокс-потенціал) при культивуванні *Simosephalus vetulus* з використанням каротинсинтезуючих дріжджів *Rhodotorula*

Використання *R. glutinis* забезпечує подібний приріст монокультури, як і в досліді з використанням *S. cerevisiae*, однак в меншій мірі спричиняє зміну фізико-хімічних показників середовища культивування.

При використанні оборотної води максимальні показники вмісту загальних каротиноїдів у досліді з *Rhodotorula glutinis* спостерігалися

також на 4 добу культивування, проте ефективність накопичення каротиноїдів була вдвічі нижчою, ніж при культивуванні *Moina* на синтетичному середовищі ADaM.

В усіх дослідних групах, в яких використовувались каротинсинтезуючі дріжджі, до 8 доби культивування рівень накопичених в організмі *Moina macroscopa* каротиноїдів знижувався майже до початкового рівня (рис. 6.3.17, А). Варто відмітити, що організми *Moina*, яких вигодовували на *Rhodotorula glutinis*, накопичували більшу кількість каротиноїдів на обох типах середовищ, однак насичення швидше проходило при культивуванні ракоподібних на середовищі ADaM.

Ефективність акумуляції каротиноїдів культурою *Simocephalus vetulus* при культивуванні на оборотній воді була в 15 разів нижчою, ніж за відповідних умов у *Moina macroscopa*. При цьому, застосування *Rhodotorula glutinis* задля збагачення зоопланктону каротиноїдами також було ефективнішим, ніж *Rhodotorula rubra*.

Максимальні показники накопичення сумарних каротиноїдів культурою *Simocephalus vetulus* реєструвалися на 4-ту добу культивування, однак при використанні середовища ADaM вміст каротиноїдів був вищим у 1,8 рази (рис. 6.3.17, Б).

Зважаючи на це, застосування каротинсинтезуючих дріжджів *Rhodotorula glutinis* та *Rhodotorula rubra* з метою збагачення живого корму *Moina macroscopa* та *Simocephalus vetulus* каротиноїдами при його культивуванні на скидній воді з УЗВ є менш ефективним, ніж на штучному середовищі ADaM, тому подальше сумісне застосування альтернативного культиваційного середовища та каротинсинтезуючих дріжджів є недоцільним.

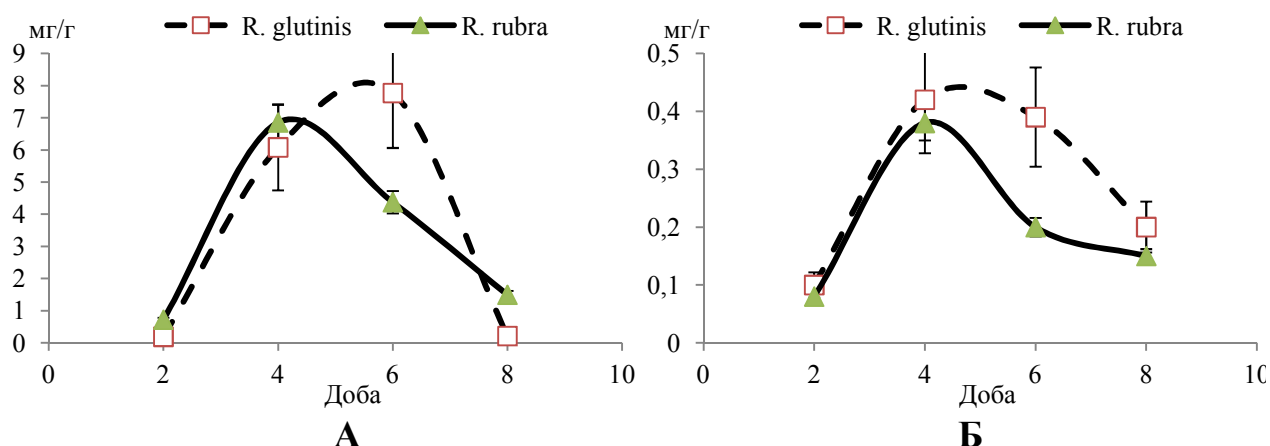


Рис. 6.3.17. Рівень загальних каротиноїдів у *Moina macroscopa* (А) та *Simocephalus vetulus* (Б) при застосуванні каротинсинтезуючих дріжджів *Rhodotorula* та вирощуванні на оборотній воді з УЗВ
 * відмінності між групами статистично достовірні при $p \leq 0,05$.

Враховуючи отримані результати, для найбільш ефективного збагачення живого корму каротиноїдами рекомендується здійснювати нарощення його чисельності та, відповідно, біомаси на скидній воді з УЗВ при використанні традиційних дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, а за 4 доби до досягнення піку чисельності зоопланктону перевести культуру на середовище ADaM та застосовувати каротинсинтезуючі дріжджі *Rhodotorula glutinis* у концентрації 0,5 г/л.

Було досліджено можливість сумісного використання ДОН-1R та каротинсинтезуючих дріжджів *Rhodotorula* у технології вирощування кормових організмів. Показано, що ДОН-1R не сприяє акумуляції зоопланктоном каротиноїдів (рис. 6.3.18, А), порівняно з контрольними значеннями (відповідні дріжджі як кормовий субстрат без препарату ДОН-1R) (рис. 6.3.18, Б).

Аналіз нутрієнтного складу досліджуваного зоопланктону засвідчив, деяке підвищення вмісту загального білку в ракоподібних, яких культивували з використанням сумісно каротинсинтезуючих дріжджів і ДОН-1R (рис. 6.3.18, Б).

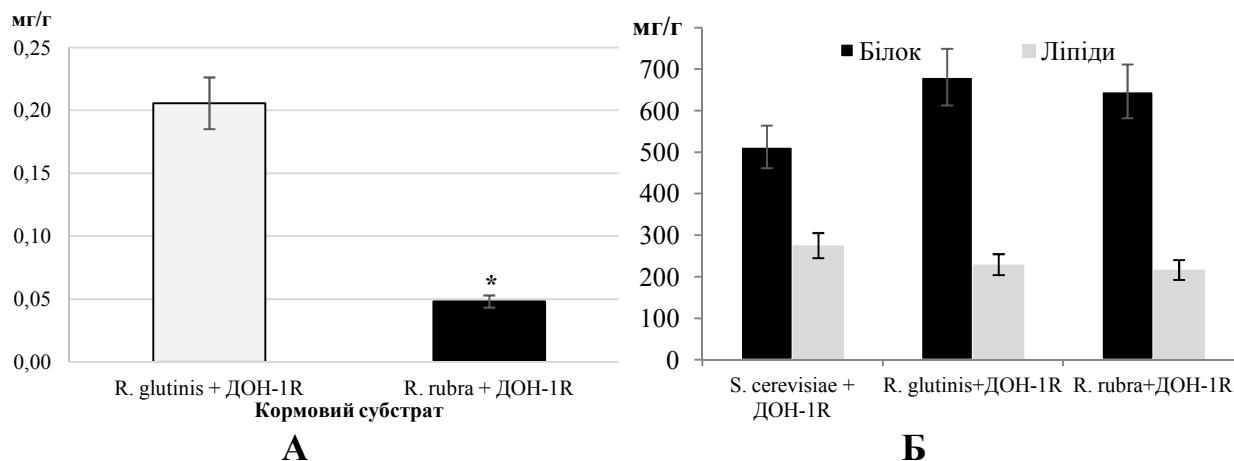


Рис. 6.3.18. Рівень загальних каротиноїдів (А) та загальних білків і ліпідів (Б) у *Simocephalus vetulus* при культивуванні на середовищі АDaM із застосуванням різних видів дріжджів та ДОН-1R

* відмінності, в порівнянні з контрольною групою, статистично достовірні при $p \leq 0,05$.

Так, якщо у випадку застосування *Saccharomyces cerevisiae* вміст білка становив 500 мг/г сухої речовини, то при використанні ДОН-1R у концентрації $66,8 \times 10^{-6}$ мкл/л та *Rhodotorula glutinis* вміст загальних протеїнів у живому кормі підвищився на 29% і становив майже 700 мг/г сухої речовини, у той же час сумісне застосування препарату і *Rhodotorula rubra* зумовило підвищення вмісту білка у *Simocephalus vetulus* на 23%. Натомість, зростання рівня загальних ліпідів спостерігалось в організмів, що культивувалися на *Saccharomyces cerevisiae* з використанням ДОН-1R. Цей показник становив 275 мг/г сухої речовини. Незначне збільшення ліпідів у групах, де застосовувалися дріжджі *Rhodotorula* та ДОН-1R, порівняно з контрольними значеннями (рис. 6.3.18, Б), відбувалося на фоні зниженого вмісту загальних каротиноїдів, що, завдяки антиоксидантним властивостям, можуть зменшувати пероксидне окислення ліпідів [326, 346].

Прісноводний зоопланктон представлений переважно короткоциклічними організмами, які швидко, протягом кількох діб, досягають репродуктивного віку. Відповідно, на відміну від крупних

наземних тварин та риб, узоопланкоту може спостерігатись доволі сильна варіабельність амінокислотного профілю. Відповідно, важливо було дослідити вплив стимулятора росту ДОН-1R на амінокислотний склад *S. vetulus* (табл. 6.3.4).

Таблиця 6.3.4

Амінокислотний профіль *Simoccephalus vetulus* при застосуванні препарату ДОН-1R, $M \pm m$, $n=3$

Амінокислота, %	Кормовий субстрат для <i>Simoccephalus vetulus</i>	
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> + ДОН-1R
Аланін	6,8 \pm 0,7	4,0 \pm 0,2*
Аспарагінова к-та + Аспарагін (сукупно)	9,7 \pm 0,9	3,0 \pm 0,1*
Аргінін	4,4 \pm 0,4	0,2 \pm 0,02*
Валін	5,5 \pm 0,5	10,3 \pm 0,7*
Гліцин	6,7 \pm 0,7	3,5 \pm 0,2*
Гістидин	1,5 \pm 0,1	0,6 \pm 0,04*
Глутамінова к-та + Глутамін (сукупно)	14,7 \pm 1,3	10,1 \pm 0,6*
Ізолейцин	3,5 \pm 0,3	11,8 \pm 1,1*
Лейцин	7,8 \pm 0,7	2,4 \pm 0,1*
Лізін	9,5 \pm 0,9	4,1 \pm 0,4*
Треонін	6,3 \pm 0,5	0,4 \pm 0,03*
Метіонін	0,6 \pm 0,1	12,0 \pm 0,7*
Пролін	1,4 \pm 0,1	4,7 \pm 0,3*
Серин	6,1 \pm 0,5	1,5 \pm 0,1*
Тирозин	4,5 \pm 0,5	3,6 \pm 0,3*
Фенілаланін	5,2 \pm 0,5	0,6 \pm 0,04*
Цистеїн	5,8 \pm 0,4	27,3 \pm 2,2*

* відмінності статистично достовірні при $p \leq 0,05$.

Так, було встановлено, що живий корм, вирощений з використанням препарату характеризується підвищенням частки деяких незамінних амінокислот, а саме валіну, метіоніну та ізолейцину. Як відомо, саме цих амінокислот молодь риб потребує найбільше для свого нормального розвитку [153]. Поряд з цим, використання препарату ДОН-1R

супроводжується інгібуванням гідролітичної активності у культивованому на каротинсинтезуючих дріжджах зоопланктоні (рис. 6.3.19). У контрольній групі *Simocerphalus vetulus*, яка не зазнавала впливу препарату, гідролітична ензиматична активність була значно вищою (рис. 6.3.19). З огляду на отримані результати, сумісне використання препарату ДОН-1R із каротинсинтезуючими дріжджами на термінальних етапах культивування зоопланктону є недоцільним.

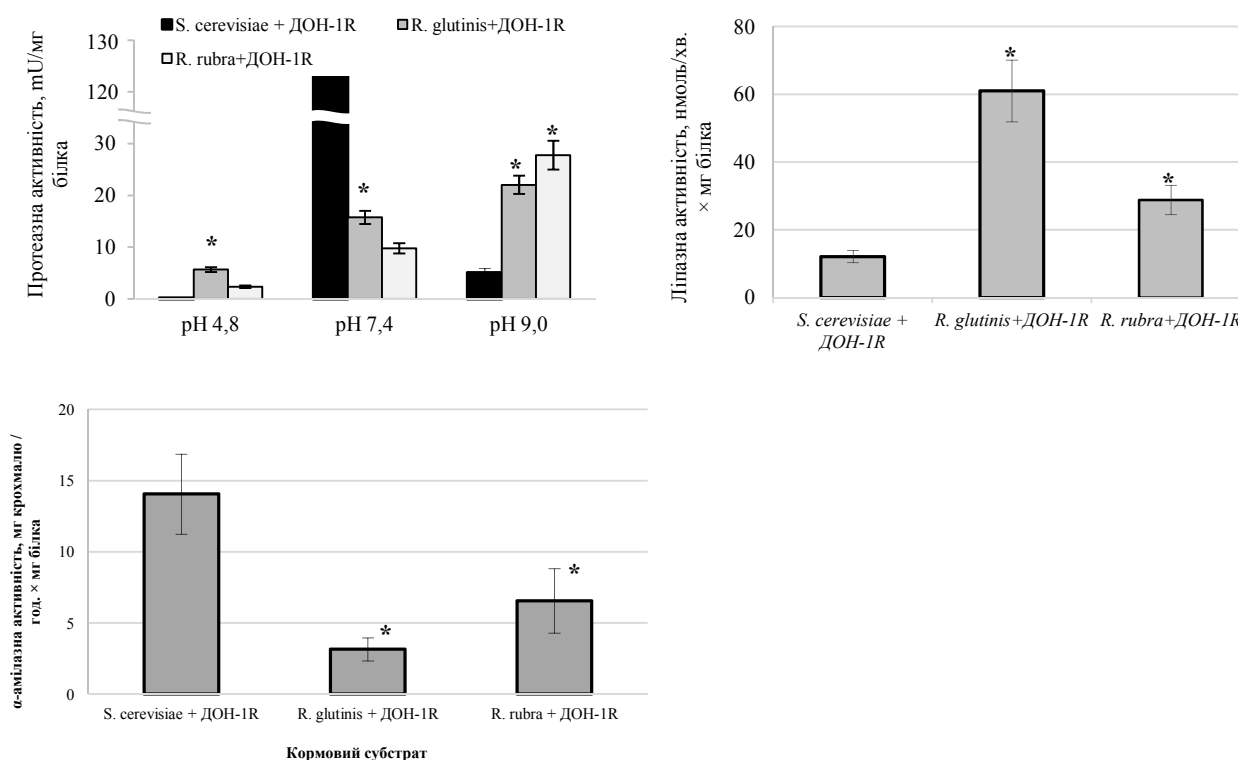


Рис. 6.3.19. Рівень гідролітичної активності у *Simocerphalus vetulus* при застосуванні різних кормових субстратів та ДОН-1R

* відмінності, в порівнянні з контрольною групою, статистично вірогідні при $p \leq 0,05$.

Отже, застосування γ -кротонолактон-вмісного препарату ДОН-1R при культивуванні зоопланктону виявилося найбільш ефективним у концентрації $66,8 \times 10^{-6}$ мкл/л культиваційного середовища. Сумісне застосування дріжджів *R. glutinis* і *R. rubra* разом із препаратом дозволило підвищити вміст загальних протеїнів у *S. vetulus* на 29% та 23%, відповідно. При цьому, вміст загальних ліпідів був найвищим у живому

кормі, що культивувався з використанням препарату та дріжджів *S. cerevisiae*. Використання ДОН-1R характеризується пригніченням гідролітичної активності у кормових організмів.

6.3.4. Оптимізація каротинсинтезуючої активності дріжджів *Rhodotorula glutinis*

Відомо, що синтез цінних метаболітів та накопичення біомаси мікроорганізмами часто не синхронізовані у часі та вимагають різних умов культивування [150, 181]. Приріст біомаси значною мірою залежить від наявних у середовищі органогенних елементів [215], а регуляція синтетичної активності можлива за дії фізичних чи хімічних мутагенів [280]. Очевидно, що для досягнення високої продуктивності мікроорганізму можливе комбінування різних факторів.

Посилення каротинсинтезуючої активності продуцентів можна спровокувати стресорними чинниками, у тому числі ультрафіолетовим випромінюванням [54].

Ультрафіолетове випромінювання – це мутагенний чинник фізичної природи. Тому більшість організмів у процесі еволюції виробили різні стратегії боротьби з УФ. Зокрема, в клітинах дріжджів у фотопротекції задіяні каротиноїди, мікоспорини та ергостерол [195]. Високі дози ультрафіолетового випромінювання використовуються в технологіях спрямованого синтезу біологічно активних сполук, які утворюються в клітинах продуцентів як захисні сполуки. За літературними даними [195, 272], для створення мутантних штамів з високими каротинсинтезуючими властивостями опромінення проводять зазвичай УФ-А (з діапазоном довжини хвиль 400-315 нм) чи УФ-В (315-280 нм), зважаючи на їх низьку цитотоксичну дію [54]. Проте дослідження щодо впливу УФ типу С на

каротиногенез залишаються відкритими.

Після експозиції ультрафіолетом довжиною хвилі 254 нм проводили кількаразове пасажування. Результатом селекції стало отримання культури, яка за своїми фізіолого-біохімічними та культуральними властивостями відрізнялася від нативної лінії. Зокрема, зміни стосувалися окремих критеріїв, за якими, зазвичай, характеризують колонії (табл. 6.3.5), насамперед кольору та характеру їх поверхні.

Таблиця 6.3.5.

Особливості опроміненої та нативної культур

	Культура	
Характеристика	Опромінена культура	Нативна культура
Забарвлення	яскраво-помаранчевий чи яскраво-рожевий	блідो-помаранчевий
Особливість поверхні	глянцева	матова
Поява пігментації	3 доба	4-5 доба

Окрім того, на поверхні рідкого поживного середовища після культивування впродовж 5 діб помічено утворення плівки, що не було притаманне нативній культурі. Заслужує уваги факт прискореного пігментоутворення опроміненою культурою – впродовж 72 год (на противагу нативній – 96-120 год).

Водночас нами зафіксовано підвищення каротинсинтезуючої активності культури. Враховуючи попередні дані тонкошарової хроматографії, що дозволили детермінувати наявність лише трьох домінуючих пігментів родоторул, подальшу спектрофотометричну

детекцію здійснювали лише для β -каротину та родоспецифічних торуліну і торулародину, без урахування мінорних фракцій каротиноїдів.

Спектрофотометричне вимірювання дозволило зареєструвати зміну концентрації трьох мажорних каротиноїдних фракцій у клітинах опромінених родоторул. Найбільшу кількість, як і в нативній культурі, становив β -каротин. Його вміст у клітинах дріжджів після опромінення збільшився в 1,3 рази і складав 52% рівня загальних каротиноїдів. Окрім того, спостерігали суттєве збільшення вмісту торулародину (в 1,7 рази порівняно із нативною культурою). При цьому відносний його рівень серед інших каротиноїдів становив 46% на противагу 34% при дослідженні нативної культури. Торуліну опромінені *R. glutinis* утворювали незначну кількість.

Такий вплив дії ультрафіолетового опромінення на пігментний склад дріжджів пояснюється особливостями метаболізму каротиноїдів. Як відомо, торулародин – це пігмент із високим антиоксидантним потенціалом, потужний поглинач синглетного кисню та пероксидних радикалів. При цьому ефективно гальмуються процеси пероксидного окиснення ліпідів, викликані дією УФ- випромінювання. За літературними даними [279], торулародин інгібує пероксиди ефективніше, ніж β -каротин та α -токоферол. Тому накопичення цього каротиноїду є відповіддю дріжджової клітини на оксидативний стрес, спричинений дією УФ-променів.

Відсутність торуліну може пояснюватися специфікою синтезу каротиноїдів: вважається, що видоспецифічний пігмент торулародин формується з торуліну внаслідок реакцій гідроксилювання та оксигенації [44]. Як свідчать літературні дані [151], у мутантів *Rhodotorula* загальна кількість каротиноїдів змінюється в широких межах, в залежності як від

специфічних характеристик виду й штаму, так і від довжини хвилі застосованого УФ опромінення.

Поруч із позитивною тенденцією щодо кількості фотопротекторних пігментів у клітинах опромінених дріжджів нами зареєстровано зниження накопичення біомаси даних мікроорганізмів в 1,5 рази (рис. 6.3.20).

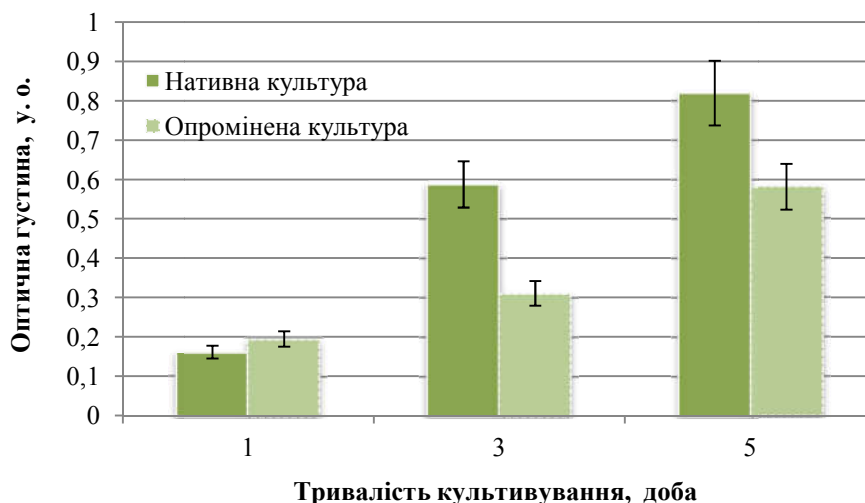


Рис. 6.3.20. Накопичення біомаси у нативній та опроміненій культурах дріжджів *R. glutinis*

Виявлені зміни можуть бути наслідком руйнівного впливу УФ через окислювальну деструкцію біополімерів, пов'язану як з безпосередньою дією опромінення, так і опосередкованою, внаслідок утворення вільних радикалів; появу розривів в одному чи обох ланцюгах ДНК; утворення УФ-індукованих піримідинових та пуринових фотопродуктів.

Отже, за дії УФ-С вдалося отримати культуру *R. glutinis*, що володіла підвищеною здатністю до каротиногенезу. Проте інтенсивність нагромадження біомаси цими мікроорганізмами не дозволяла їх ефективно використовувати для подальших технологій. Тому виникла потреба у розробці методів щодо збільшення ростової активності досліджуваної

культури. Один з можливих економічно обґрунтованих підходів – застосування альтернативних середовищ.

Аналіз літературних даних щодо продуцентів біологічно активних речовин показує зростаючий інтерес до використання природних субстратів у якості компонентів поживного середовища для культивування мікроорганізмів (меляса, виноградний сік, кукурудзяний сироп, молочна сироватка) [139]. Проте не всі карбоновмісні субстрати доступні каротинсинтезуючим дріжджам, що пов'язано із відсутністю метаболічних шляхів для їх засвоєння. В такому випадку найефективнішим вирішенням цієї проблеми є спільне культивування з іншими мікроорганізмами, які синтезують необхідні ферменти. Молочна сироватка містить у своєму складі лактозу як джерело вуглецю. Відомо, що дріжджі *R. glutinis* не здатні утворювати 1,4- β -галактозидазу для розщеплення цього субстрату. Тому, за умови спільного культивування на середовищі з молочною сироваткою дріжджів із молочнокислими бактеріями можна ефективно утилізувати наявний вуглевод.

З іншого боку, важливість формування асоціації даних мікроорганізмів обґрунтована пробіотичними властивостями молочнокислих бактерій. Серед них відомо багато представників, що використовуються як лікувально–профілактичні засоби для риб. До основних ознак таких мікроорганізмів відносять: безпеку застосування, стійкість до природних інгібіторів травного тракту та антибіотиків, високий колонізаційний, антагоністичний, біосинтетичний, імуномодуючий потенціал, стимулюючий вплив на розвиток індогенної мікрофлори [210]. Факторами антагонізму молочнокислих бактерій є продукція органічних кислот, бактеріоцинів, антибіотикоподібних речовин, пероксиду водню, лізоциму. Для профілактики і лікування проявів кишкових захворювань та корекції механізмів імунного захисту

риб часто використовують пробіотики на основі *Lactobacillus*, що виявляють антагоністичний вплив на патогенні стрептококи й лактококи та засоби, на основі спороутворюючих бактерій, які ефективні щодо широкого спектру умовно-патогенних та патогенних мікроорганізмів, з притаманною їм протиалергенною, антитоксичною дією, високою ферментативною активністю. Крім того, застосування пробіотиків позитивно впливає на заживання виразок, нормалізацію слизоутворення на поверхні тіла риб, покращення стану зябрового апарату, стабілізацію функцій кишечника і покращення його ензиматичної активності, активацію специфічних та неспецифічних систем захисту макроорганізму [321].

Проведений скринінг біохімічної активності культур молочнокислих бактерій, попередньо виділених співробітниками кафедри зі слизових оболонок травного тракту осетрових, дозволив виявити кілька з них, які володіли високими адгезивними та антагоністичними властивостями. Для утворення асоціацій з каротинсинтезуючими дріжджами *R. glutinis* використано одну з культур. Сформувавши два типи асоціацій. Перша включала нативну культуру *Rhodotorula glutinis* УКМ Y-1242 та молочнокислі бактерії (МБК), друга містила опромінену культуру *Rhodotorula glutinis* та ті ж самі молочнокислі бактерії.

При вирощуванні асоціацій мікроорганізмів на середовищі, що містило молочну сироватку, нами зафіксовано збільшення кількості живих клітин дріжджів на кінець основної ферментації порівняно з аналогічним показником при вирощуванні монокультур. У випадку дослідження опромінених *Rhodotorula* кількість колонієутворюючих одиниць у чашках Петрі, в середньому, змінювалася від 51 (у середовищі Сабуро) до 67 (при сумісному культивуванні з молочнокислими бактеріями (рис. 6.3.21)).

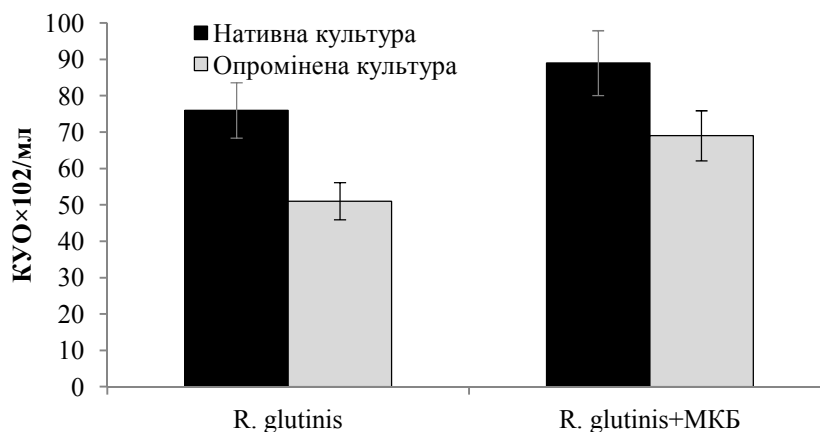


Рис. 6.3.21. Кількість колоній *R. glutinis* на агаризованому середовищі Сабуро після 120-годинної основної ферментації у рідких середовищах різного типу

Інтенсифікацію каротиногенезу в клітинах родоторул відзначали при вирощуванні асоціацій обох типів. Причому зберігалася виявлена раніше тенденція – кількість каротиноїдів у клітинах опроміненої культури залишалася вищою, ніж у нативної.

Для нативної культури зареєстровані наступні зміни кількості окремих каротиноїдних фракцій: вміст β -каротину зростав на 28 %, торуліну – в 1,6 рази, торулародину – залишався незмінним (рис. 6.3.22).

У випадку опроміненої культури виявлені такі закономірності – рівень β -каротину та торулародину зростав в 1,4 рази, торуліну приблизно у 3 рази.

Найвищий рівень β -каротину та торулародину зафіксований при спільному культивуванні опроміненої культури *R. glutinis* з молочнокислими бактеріями, а максимальну кількість торуліну відмічали при вирощуванні асоціації «нативна культура *R. glutinis* + молочнокислі бактерії».

Найбільш вражаючими були чисельні відмінності показників окремих каротиноїдних фракцій при оцінці «крайніх» дослідних груп – нативної культури *Rhodotorula glutinis* УКМ Y-1242, вирощеної на традиційному

середовищі Сабуро та опроміненої культури родоторул за умов кокультивування: вміст β -каротину змінювався у 1,7 рази, а торулародину – у 2,3 рази.

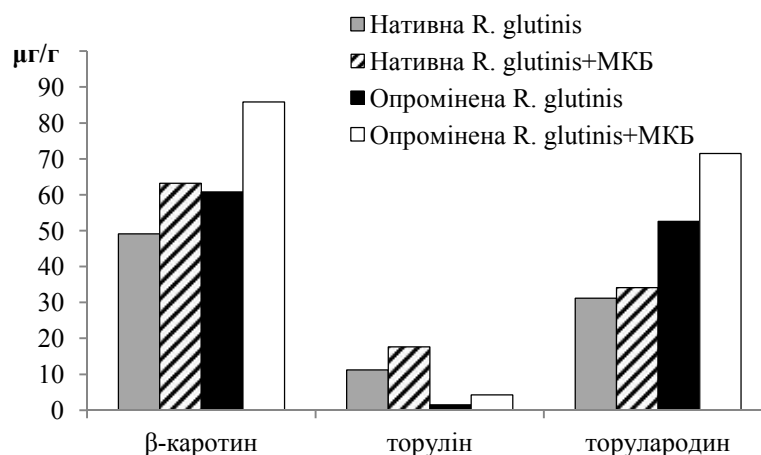


Рис. 6.3.22. Вміст окремих каротиноїдних фракцій у клітинах *R. glutinis* при культивуванні з молочнокислими бактеріями

Аналіз проведених експериментальних досліджень дозволив констатувати, що оптимальною комбінацією для отримання високоефективних каротинсинтезуючих дріжджів є послідовна реалізація наступних методичних підходів: 1) отримання опроміненої культури; 2) її основна ферментація в асоціації з молочнокислими бактеріями на середовищі, що містить молочну сироватку.

Окрім того, асоціації дріжджів із молочнокислими бактеріями можуть характеризуватися значною резистентністю до контамінації алохтонною мікрофлорою за рахунок зниженого рівня рН. Подібні закономірності виявлені у випадку сумісного культивування *Rhodotorula* та *Lactobacillus casei* [196].

Отже, формування асоціації молочнокислих бактерій з опроміненою культурою каротинсинтезуючих дріжджів *R. glutinis* призводить до

зростання продуктивності як за біомасою, так і за цільовим продуктом – каротиноїдами.

6.3.5. Оцінка поживної цінності зоопланктону при використанні *Rhodotorula glutinis* в асоціації з лактобактеріями як кормового субстрату

Враховуючи швидкість накопичення біомаси та високу каротинсинтезуючу здатність опромінених форм *R. glutinis* в асоціації з молочнокислими бактеріями доцільним було саме їх використання для інкапсуляції зоопланктону. Для порівняння застосовували нативні та опроміненні монокультури дріжджів *R. glutinis*.

Підтвердженням наших припущень стала реєстрація найбільшої кількості каротиноїдів у випадку вигодовування дафній асоціацією мікроорганізмів. На період максимального накопичення біомаси *D. magna* (Straus, 1820) вміст загальних каротиноїдів зростав у 1,4 разу, у випадку застосування нативної культури *R. glutinis*, в 5,7 разів при годуванні ракоподібних опроміненою культурою, понад 8 разів при використанні асоціації мікроорганізмів порівняно із групою тварин, для яких кормом слугували сахароміцети (рис. 6.3.23).

Поживна цінність живих кормів визначається вмістом у них білків та жирів. Було припущено, що активне накопичення зоопланктоном каротиноїдів може призвести до перерозподілу співвідношень окремих нутрієнтів та зменшити поживну цінність планктону. Оскільки використання різних харчових субстратів на основі каротинсинтезуючих дріжджів характеризувалося диференційованою ефективністю збагачення живого корму каротиноїдами, нами було досліджено вплив цих кормових субстратів на вміст загальних протеїнів і загальних ліпідів у дослідних організмах.

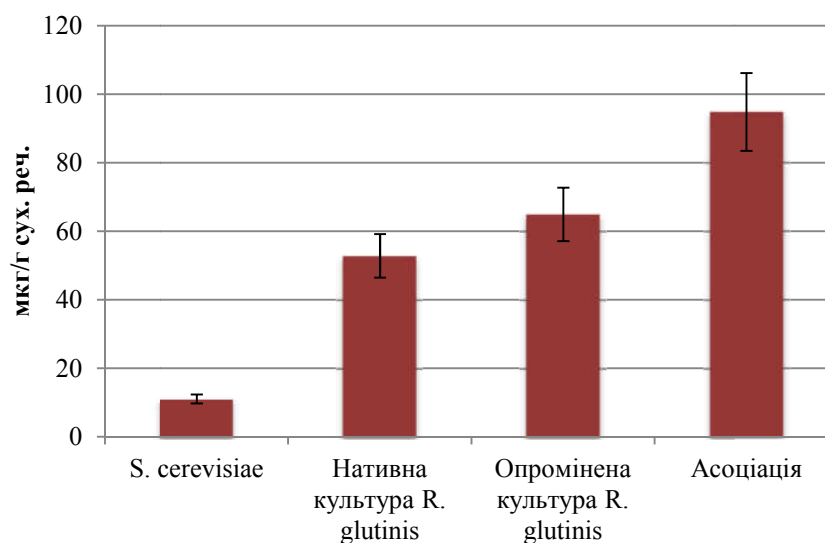


Рис. 6.3.23. Вміст загальних каротиноїдів у біомасі *Daphnia magna* за умов використання різного харчового субстрату

Аналіз нутрієнтного складу *D. magna* при використанні каротиновмісних дріжджів показав деяке збільшення вмісту загальних протеїнів (рис. 6.3.24).

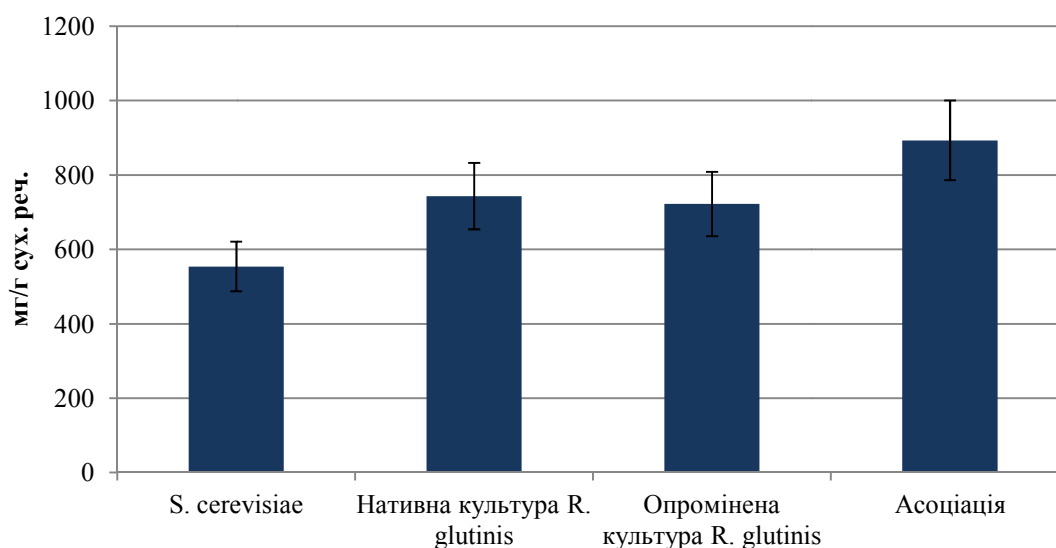


Рис. 6.3.24. Вміст загального білка у біомасі *Daphnia magna* за умов використання різного харчового субстрату

Найвищі значення даного показника зареєстровані при вигодовуванні зоопланктону асоціацією мікроорганізмів, що містила опромінену культуру. Відомо, що поживна цінність зоопланктону для риб на ранніх

етапах розвитку визначається не тільки високим вмістом протеїнів у живому кормі, а й тим, що 50-70% білка знаходиться в розчинній формі, при чому значна його частина представлена у вигляді продуктів білкового обміну – низькомолекулярних пептидів і вільних амінокислот [153]. Ймовірно, свою частку для збагачення цінними нутрієнтами зоопланктному вноситимуть й наявні у складі асоціацій молочнокислі бактерії. Бактеріальний білок має високу поживну цінність завдяки високому вмісту незамінних амінокислот, а гідролітичні ферменти сприятимуть процесу травлення та попереджатимуть контамінацію.

Оцінка вмісту загальних ліпідів в усіх дослідних групах показала незначну варіабельність (рис. 6.3.22). Деяке скорочення частки загальних ліпідів при використанні каротинсинтезуючих дріжджів пояснюється тим, що споживання каротиноїдів може призводити до інгібування диференціації адипоцитів із клітин-попередників [346].

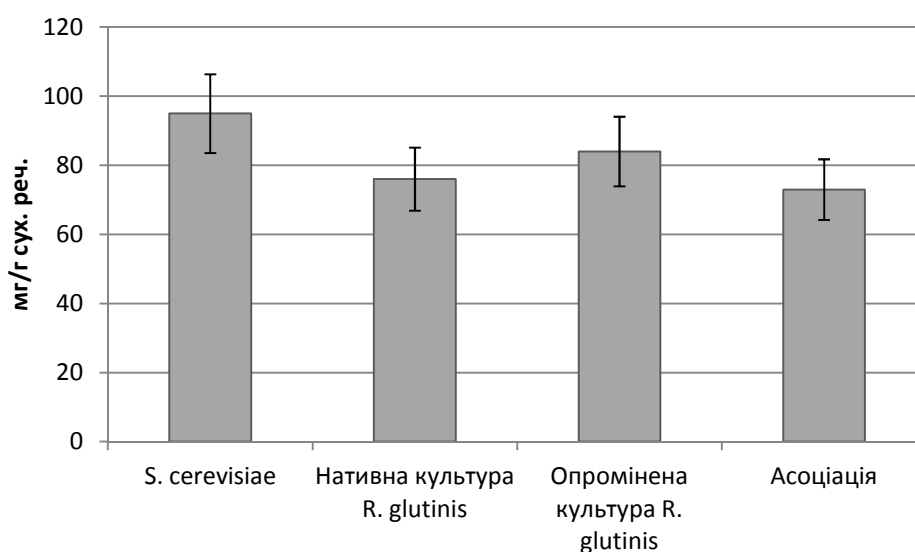


Рис.6.3.25. Вміст загальних ліпідів у біомасі *Daphnia magna* за умов використання різного харчового субстрату

Таким чином, культивування опроміненої культури дріжджів в асоціації із молочнокислими бактеріями дозволяє покращити продуктивність *R. glutinis*. Використання такої біомаси в якості субстрату

при культивуванні *Daphnia magna* (Straus, 1820) призводить до накопичення пігментів та збільшення вмісту білків у організмі ракоподібних.

6.4. Застосування пробіотичних препаратів в біотехнології водних біоресурсів

Відомо, що бактеріальні захворювання є одними з найбільш небезпечних хвороб риб, оскільки характеризуються високою швидкістю розповсюдження та несприятливими наслідками й втратами (погіршенням товарного вигляду, зменшенням приросту маси тіла, погіршенням якості та загибеллю риби). За даними FAO, на сьогодні величезні втрати у виробництві аквакультури пов'язані із розвитком бактеріальних та вірусних інфекційних захворювань гідробіонтів. На характер прояву і перебігу бактеріальних захворювань великий вплив мають технологічні умови відтворення риб і ступінь інтенсифікації процесів, загальний рівень виробництва риби на кожному біотехнологічному циклі її вирощування та утримання [273].

У риб, що культивуються в умовах промислового виробництва та вирощуються у природних водоймах, а також на заводах по відтворенню лососевих, осетрових, оселедцевих та інших видів риб, збудниками бактеріальних захворювань найчастіше є патогенні форми бактерій, що відносяться до родів: *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Cytophaga*, *Mycobacterium* та інші [179].

Для корекції стану дисбіозу у риб як лікувально-профілактичні засоби все частіше використовуються пробіотики. Застосування пробіотиків можна вважати ефективним методом компенсації

несприятливих зовнішніх впливів на рибу при її штучному вирощуванні. До основних ознак таких мікроорганізмів належать:

- виділення з організму здорових тварин, для яких яких вони будуть призначенні;
- чітке генетичне та фізіолого-біохімічне маркування;
- безпека застосування та мінімальну здатність до транслокації з просвіту травного тракту у внутрішнє середовище макроорганізму,
- стійкість до природних інгібіторів травного тракту та антибіотиків;
- високий колонізаційний, антагоністичний, біосинтетичний, імуномодулюючий потенціал,
- стимулюючий вплив на розвиток індигенної мікрофлори.

Для профілактики і лікування проявів захворювань та корекції механізмів імунного захисту риб часто використовують пробіотики на основі молочнокислих та спороутворюючих бактерій [226], які ефективні щодо широкого спектру умовно-патогенних та патогенних мікроорганізмів, з притаманною їм протиалергенною, антитоксичною дією, високою ферментативною активністю. Крім того, застосування пробіотиків позитивно впливає на заживання виразок, нормалізацію слизоутворення на поверхні тіла риб, покращення стану зябрового апарату, стабілізацію функцій кишечника і покращення його ензиматичної активності, активацію специфічних та неспецифічних систем захисту макроорганізму, поліпшення фізіологічного стану і забезпечення високої виживаності й активного росту риб, конверсії корму, збільшення приросту маси, збереженості ікри, виживаності личинок та мальків [204; 322].

Модуляція імунної системи є однією з найпоширеніших переваг пробіотиків та їх потенціалу для стимуляції системного та місцевого імунітету в умовах *ex vivo* та в умовах *in vivo*. Різноманітні пробіотики

сприяють посиленню фагоцитарної, лізоцимної, комплементної активностей, а також експресії різних цитокінів у риб [317].

Останніми роками розширився спектр бактерій які можна використовувати як пробіотики у рибних господарствах, однак, *Lactobacillus sp.* і *Bacillus sp.* залишаються домінуючими внаслідок високої екстрацелюлярної ферментативної та антагоністичної активності. Зокрема, факторами антагонізму молочнокислих бактерій є коротколанцюгові органічні кислоти, бактеріюцини, антибіотикоподібні речовини, пероксид водню, лізоцим. Відомо, що молочнокислі бактерії присутні в шлунково-кишковому тракті здорових риб, виділені штами видів *Bifidobacterium longum*, *B. dentium*, *B. asteroides*, *Enterococcus faecium* та *E. hirae*, роду *Lactobacillus*.

Дослідження із використання *Lactobacillus casei* проводили на личинках коропа віком 25 діб. Тривалість експерименту становила 13 діб.

Результати дослідження показали, що додавання пробіотику до кормів призводило до інтенсифікації наростання маси личинками. Зокрема, абсолютний добовий приріст личинок коропа дослідної групи був збільшений на 12,5% у порівнянні з контролем (табл. 6.4.1).

Таблиця 6.4.1

Ростові характеристики личинок коропа за умов додавання

***Lactobacillus casei* в корми**

	Контроль	Дослід
Початкова маса тіла, мг	3,1±0,4	3,1±0,4
Кінцева маса тіла, мг	83,2±0,91	93,4±0,89
Абсолютний добовий приріст, мг/доба	6,15±0.58	6,92±0.61
Відносний добовий приріст, %/доба	25,54±1.98	26,42±2.01

Дослідженнями показано, що профілактичне застосування

пробіотиків сприяє мобілізації клітинної та гуморальної ланок імунного захисту мальків і дорослих особин риби, посиленню вродженого та модуляції адаптивного імунітету [365], інтенсифікації процесів травлення та засвоюваності нутрієнтів, посиленню стресостійкості, резистентності до збудників інфекційних хвороб, поллютантів та токсикантів [268]. Вказані фактори, очевидно, й лежать в основі стимуляції ростових процесів личинок дослідної групи.

Введення з кормом *Lactobacillus casei* має вплив на мікрофлору личинок коропа. Зокрема, відмічено закономірне майже дворазове зростання кількості лактобацил та активне пригнічення росту стафілококів, стрептококів та мікроскопічних грибів. (рис. 6.4.1.)

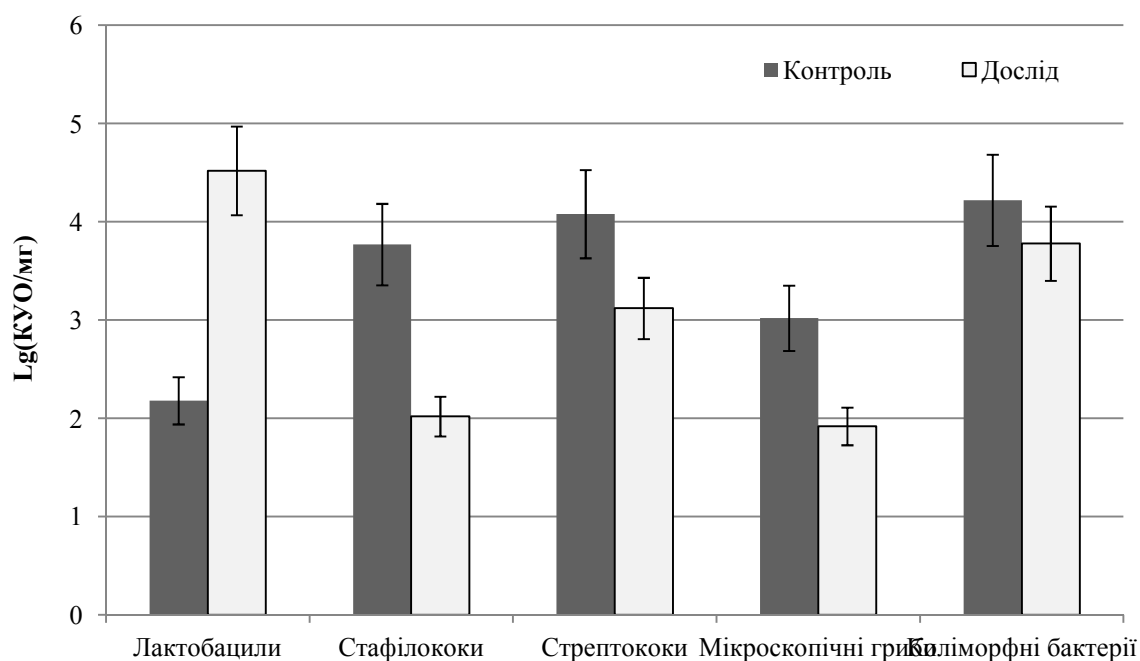


Рис. 6.4.1. Вплив *Lactobacillus casei* на мікрофлору личинок коропа

Ймовірно, отримані результати зумовлені активною дією бактеріоцинів, зокрема казеїцину, синтез якого характерний для *L. casei* [98], які пригнічують ріст та розмноження бацил, стрептококів, клостридій, ентеробактерій, псевдомонад, стафілококів, дріжджів, кандід.

Дослідження мікрофлори води, в якій перебували личинки коропа дослідної групи під час експерименту, показало наявність лактобацил та відсутність стафілококів, стрептококів та мікроскопічних грибів, що висівались у воді контрольної групи (рис. 6.4.2.)

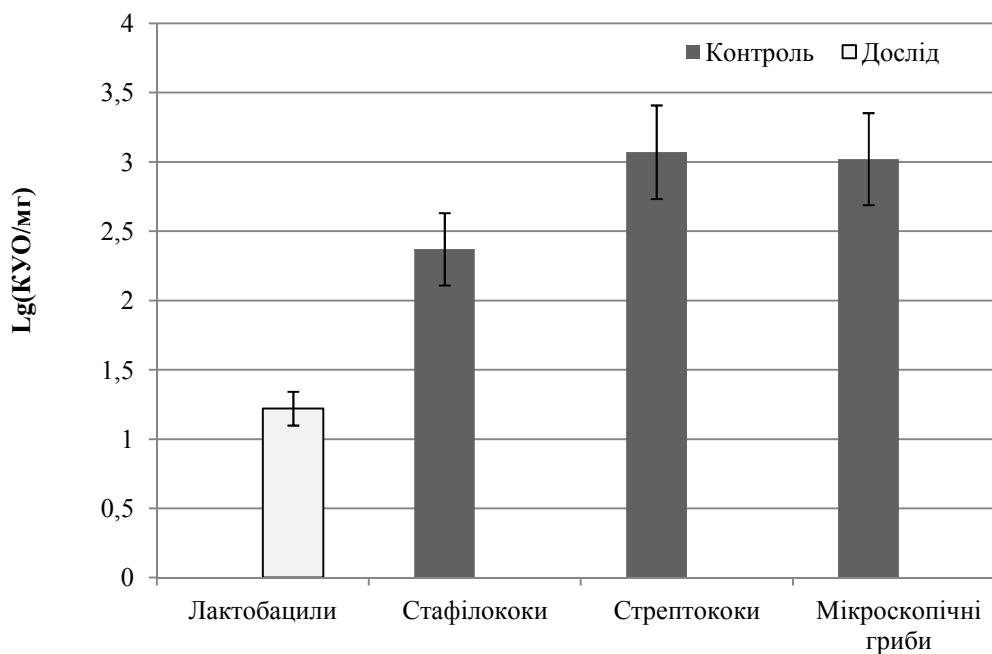


Рис. 6.4.2. Вплив *Lactobacillus casei* на мікрофлору води, в якій утримували личинок коропа

Таким чином, введення в корми лактобактерій в кінцевому результаті позитивно вплинуло на ростові процеси в личинок риби. При цьому спостерігалось пригнічення патогенної та умовно патогенної мікрофлори як в організмі риби, так і в воді, де вони вирощуються.

6.5. Використання базальтового туфу у технології культивування живих кормів для риби

Базальтові туфи – природні алюмосилікати цеолітної групи мінералів. Цеоліти володіють низкою унікальних властивостей, зокрема

адсорбційними, і тому застосовуються в технологічних процесах очищення рідин, у тому числі використаних вод [20; 122; 229]. Однією з проблем, які виникають при періодичному методі культивування зоопланктону, є виснаження культиваційного середовища, що пов'язане із накопиченням у ньому продуктів метаболізму [49]. Застосування речовин із високими адсорбційними властивостями, таких як цеоліти, може мати пролонгуючий ефект у використанні середовищ без їх оновлення, що забезпечує зниження собівартості живих кормів. Враховуючи вище вказане, була перевірена можливість та доцільність застосування цеолітів з родовища «Полицьке 2» у процесі культивування кладоцер.

Проведення випробувань на гіллястовусих ракоподібних дає можливість не лише оцінити адсорбтивні властивості туфу за рівнем поглинання кінцевих метаболітів, але й дозволяє виявити можливі негативні впливи на біологічні системи, оскільки дані організми є класичними об'єктами у токсикологічних експериментах [286; 303].

За результатами проведених досліджень встановлено, що використання базальтового туфу забезпечує підвищення інтенсивності нарощення культури *M. macroscopa*. Позитивний ефект від застосування туфу проявлявся, починаючи з 6–8 доби культивування. Максимального розвитку культури моїн досягали на 14 добу, при чому щільність культур, які вирощували із використанням туфу в усіх трьох досліджуваних концентраціях, була у 2 рази вищою за контроль (рис. 6.5.1а).

Загалом, культура *S. vetulus* характеризується, як вже було вказано вище, значно нижчими темпами наростання, і досягає максимальної щільності на 4 добу. Внесення природного базальтового туфу у жодній з досліджуваних концентрацій не впливає на динаміку щільності культури *S. vetulus* (рис. 6.5.1б).

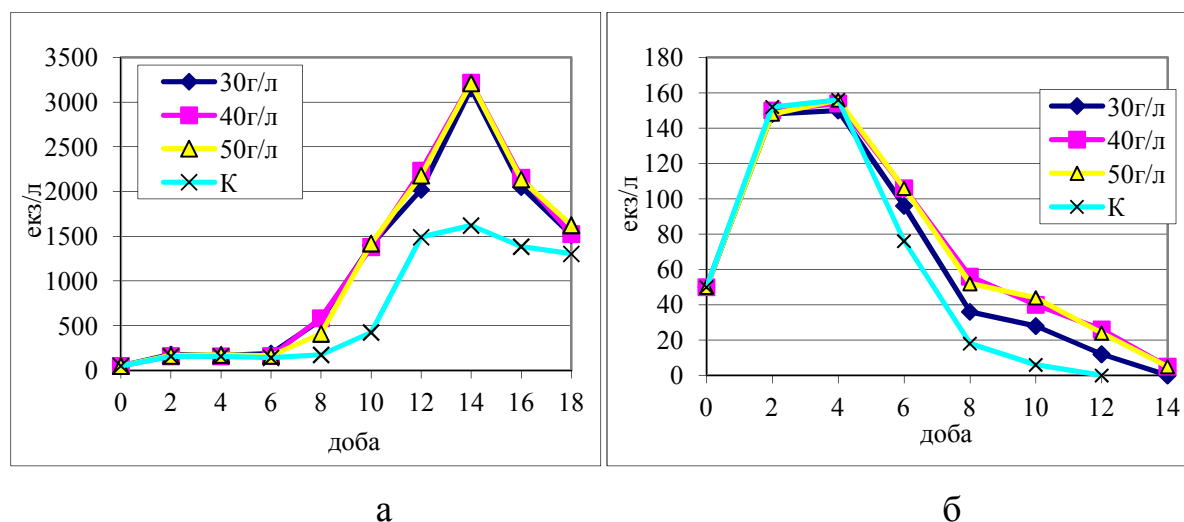


Рис. 6.5.1. Динаміка щільності монокультур *M. macrospora* (а) та *S. vetulus* (б) при застосуванні природного немодифікованого туфу

Поряд з цим, однак, було виявлено, що використання базальтового туфу дозволяє сповільнити темпи відмирання монокультури даного виду.

Відомо, що термічна обробка істотно впливає на фізико-механічні властивості туфів, які визначають їх сорбційні властивості [122]. Так, при активації туфів при температурах від 150°C та вище спостерігається збільшення питомої поверхні внаслідок випаровування з пор мікрокапілярної та зв'язаної води, крім того з'являються додаткові мікротріщини.

При культивуванні *M. macrospora* з внесенням у ємності термічно активованого за температури 150°C туфу спостерігається збільшення щільності культури у 2,3 рази, порівняно із контролем (рис. 6.5.2а), тоді як при використанні природного мінералу – тільки у 2 рази (рис. 6.5.1а).

Істотних змін у динаміці щільності культури *S. vetulus* при використанні активованого (150°C) туфу, так само як у випадку із неактивованим, не спостерігалось, проте дещо сповільнилось затухання культури (рис. 6.5.2б).

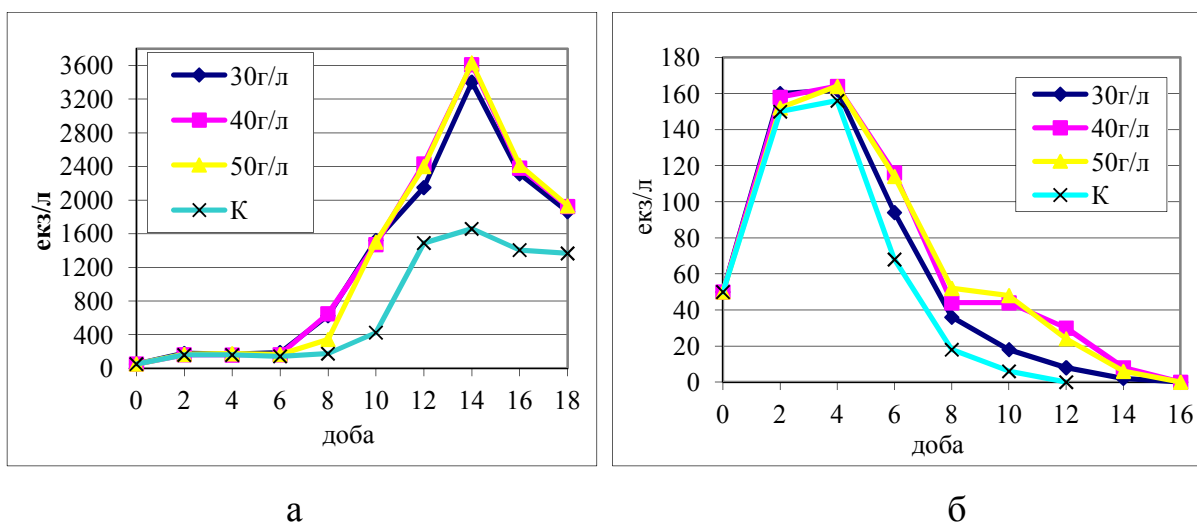


Рис. 6.5.2. Динаміка щільності культури *M. macroscopa* (а) та *S. vetulus* (б) при використанні активованого туфу (150°C)

У зв'язку з отриманими позитивними тенденціями при застосуванні термічно активованого туфу, нами було висунуто припущення, що підвищення температури обробки може сприяти покращенню результату.

Однак, у варіанті дослід з використанням прожареного за температури 1000°C туфу спостерігався негативний вплив на ріст культур обох досліджуваних видів. При цьому, протягом 8 діб культивування спостерігали повне відмирання культур обох видів зоопланктону (рис. 6.5.3).

Відомо, що під час прожарювання базальтових туфів при температурах, близьких до 1000°C, відбувається „спікання” поверхні мінералу, що призводить до зменшення розмірів пустот та каналів (пор), їх контури стають нечіткими та розмитими. При підвищенні температури понад 1050°C з'являються ознаки розплавлення. Як наслідок, адсорбтивні властивості цеолітів погіршуються. Окрім того, при високих температурах (більше 500°C) може проходити піроліз окремих солей, зокрема сульфатів. Внаслідок цього, при використанні прожарених туфів у культивацийне середовище можуть потрапляти токсичні для організмів сполуки. Отже,

використання прожарених туфів при культивуванні водних організмів є недоцільним. З іншого боку, застосування активованих при 150°C туфів хоч і дає кращі результати при культивуванні водних безхребетних, проте отриманий позитивний ефект не перекриває енергетичні затрати на процес активації. Відповідно, найбільш доцільним при культивуванні кормового зоопланктону є використання природних термічно необроблених цеолітів, які й застосовувались у подальших дослідженнях.

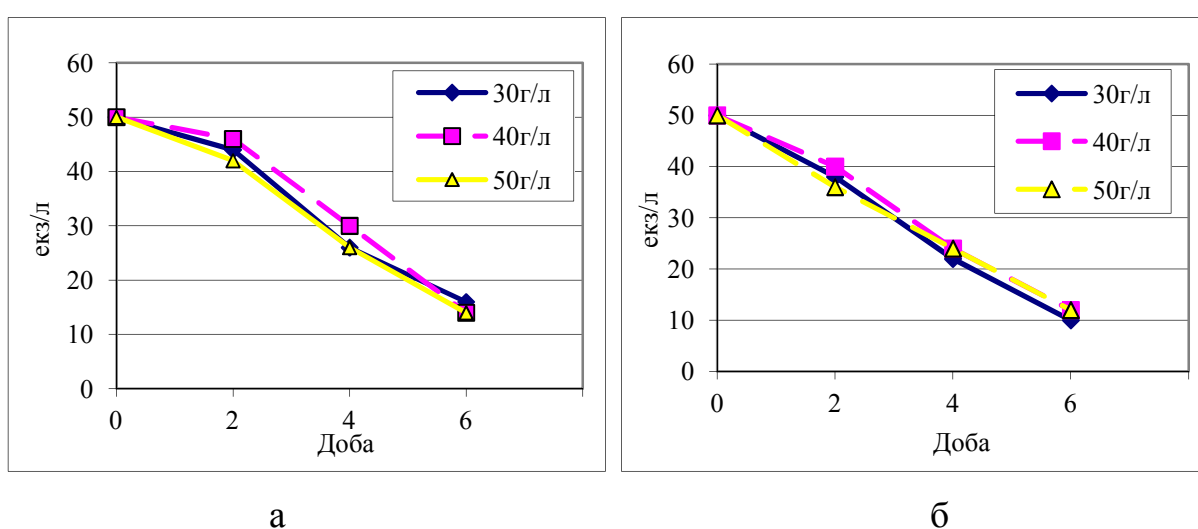


Рис. 6.5.3. Динаміка щільності культур *M. macroscopa* (а) та *S. vetulus* (б) при використанні прожареного за температури 1000°C туфу

Одним із основних лімітуючих чинників для нарощення щільності культур планктонних безхребетних в обмеженому об'ємі при періодичному культивуванні є накопичення в культиваційному середовищі кінцевих метаболітів. Як і в переважної більшості гідробіонтів, у планктонних ракоподібних кінцевим продуктом білкового обміну є амоній-іон [334], який в присутності розчиненого кисню окислюється спочатку до нітрит-, а в подальшому до нітрат-іону. Нами було припущено, що використання туфу в якості адсорбенту дозволить зменшити в культиваційному середовищі вміст розчинних форм нітрогену.

За результатами досліджень показано, що використання базальтового туфу забезпечує сповільнення накопичення іонів NH_4^+ та продуктів його окиснення NO_2^- та NO_3^- у культивацийному середовищі завдяки адсорбційним процесам (рис. 6.5.4).

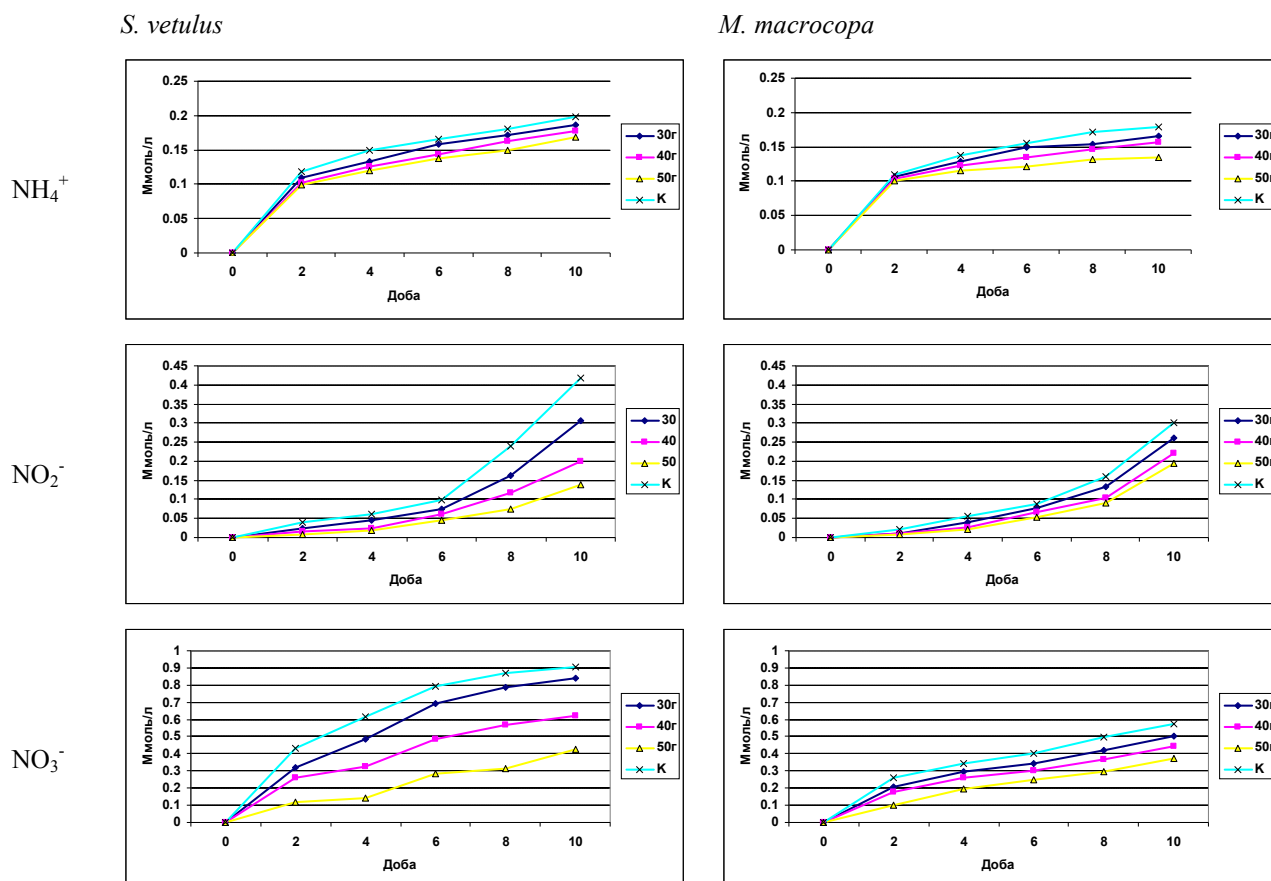


Рис. 6.5.4. Динаміка вмісту розчинних форм нітрогену в культивацийному середовищі *S. vetulus* та *M. macroscopa* при застосуванні різних концентрацій базальтових туфів

Найбільшою токсичністю для водних організмів серед досліджуваних іонів володіє амоній, особливо його неіонізована форма. У лужній воді насичення аміаком значно вище, ніж у підкисленій. Так, у воді з температурою +25°C при рН 8,5 частка розчиненого молекулярного аміаку досягає 13,4%, а при рН 6 – лише 0,05%. Відповідно, важливим

було проаналізувати вплив досліджуваних цеолітів на динаміку рН культивацийного середовища.

В процесі культивування моїн спостерігається зміна рН в культивацийному середовищі через накопичення у ньому продуктів життєдіяльності організмів (рис. 6.5.5а). Натомість, у експерименті з *S. vetulus* значного зростання водневого показника не спостерігається, що пов'язано із незначною щільністю культури (рис. 6.5.5б).

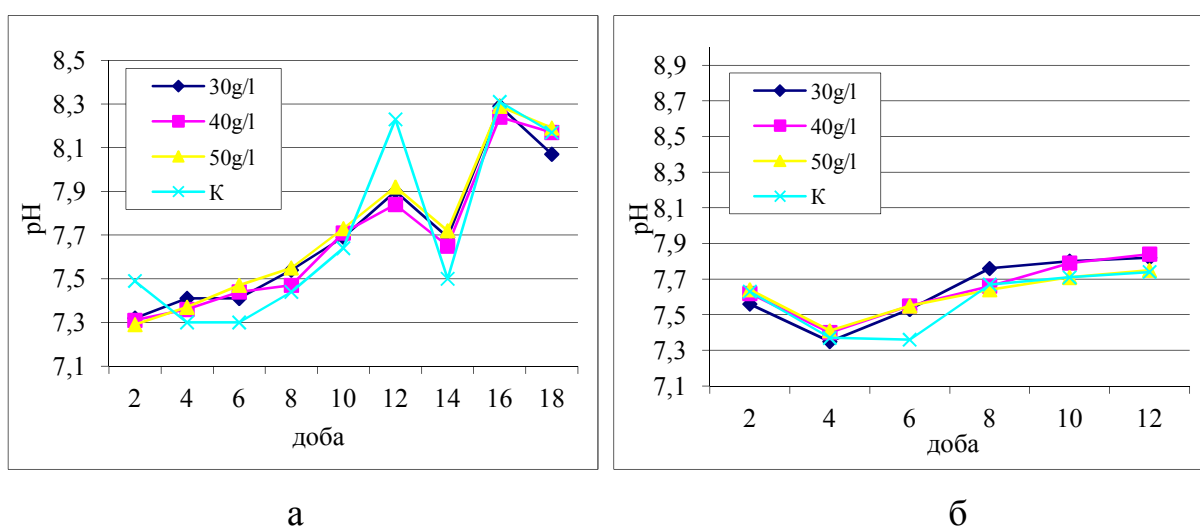


Рис. 6.5.5. Динаміка рН при культивуванні *M. macroscopa* (а) та *S. vetulus* (б) при застосуванні природного немодифікованого туфу

Застосування термічно необробленого базальтового туфу хоч і не змінює загальний тренд в динаміці рН середовища протягом культивування зоопланктону, проте згладжує різкі зміни значень рН, які характерні для контрольних груп (рис. 6.5.5).

Очевидно, накопичення розчинних форм нітрогену в культивацийному середовищі (без його періодичної підміни) в період збільшення біомаси зоопланктону може призвести до зростання загальної мінералізації, а, отже, і осмотичності середовища. Різкі зміни осмотичності середовища можуть викликати порушення механізмів підтримання водно-

сольового балансу у гідробіонтів, і, як наслідок, пригнічення розвитку культури. Як і у випадку з водневим показником, присутність базальтового туфу у культивацийному середовищі дещо згладжує різкі зміни значень загальної мінералізації (рис. 6.5.6).

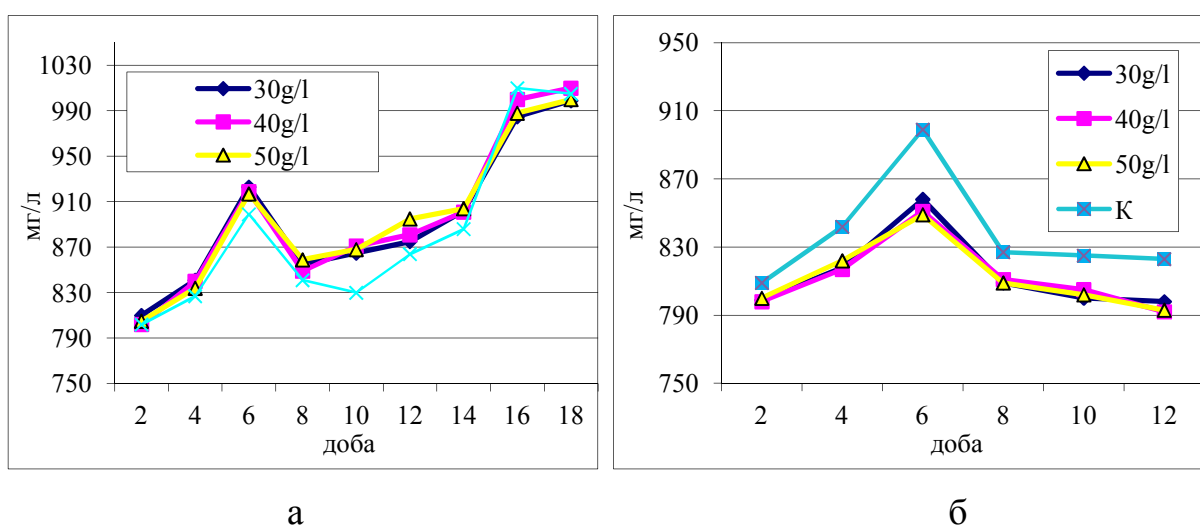


Рис. 6.5.6. Динаміка значень загальної мінералізації середовища в процесі культивування *M. macroscopa* (а) та *S. vetulus* (б) при застосуванні природного немодифікованого туфу

Відомо, що, окрім адсорбтивних, базальтові туфи володіють й іонообмінними властивостями. Це, відповідно, впливає на мінеральний склад організмів, яких культивують у присутності зазначених мінералів. Так, при утриманні монокультури *M. macroscopa* при різних концентраціях базальтового туфу з родовища «Полицьке – 2» було виявлено зменшення вмісту в культивованих організмів Цинку, натомість спостерігалось незначне накопичення Натрію і Калію та істотне збільшення вмісту Мангану (табл. 6.5.1), вміст якого в тілі дослідних тварин перевищував у 10 разів контрольні значення.

Таблиця 6.5.1

Вміст металів у *M. macroscopa* при культивуванні з використанням базальтового туфу, мг/кг сухої маси

	Контроль	Концентрація туфу		
		30г/л	40г/л	50г/л
Na ⁺	166,3 ±1,4	181,6±12,5	203,3±15,6*	168,3±10,6
K ⁺	130±2,08	168±7,7	205±18,3*	172±5,2*
Ca ²⁺	85,6±2,9	143,3±16,5	96,3±4,9	86,3±5,3
Cu ²⁺	0,18±0,02	0,12±0,004	0,18±0,002	0,18±0,03
Zn ²⁺	1,57±0,6	0,81±0,14*	1,05±0,03	0,73±0,1*
Mn ^{2+/4+}	0,016±0,006	0,16±0,04*	0,2±0,05*	0,14±0,06*

* – різниця достовірна, порівняно з контролем, при $p \leq 0,05$.

Іонообмінні властивості базальтових туфів роблять їх перспективною сировиною для кормовиробництва як джерела мікроелементів.

Висновки до розділу 6.

Розроблена схема біоінкапсуляції поліненасичених жирних кислот в науплїї артемії забезпечує отримання живих кормів з підвищеним вмістом ейкозапентаєнової та докозагексаєнової жирних кислот. Рівень смертності науплїй за такої схеми складає лише 10% при максимальному збереженні їх поживної цінності

Показана можливість застосування дріжджів роду *Rhodotorula* в технології насичення прісноводних кормових організмів *Moina macroscopa* та *Simoccephalus vetulus* каротиноїдами без втрати ними поживної цінності. Розроблено технологічні режими біоінкапсуляції каротиноїдів та поліненасичених жирних кислот у кормові організми, що дозволяє отримати живі корми з підвищеним вмістом астаксантину і його естерів, а також ейкозопентаєнової, докозогексаєнової та ліноленової жирних кислот.

Спільне культивування каротинсинтезуючих дріжджів та молочнокислих бактерій призводить до підвищення накопичення біомаси *Rhodotorula glutinis* та зростання їх каротинсинтезуючої активності як у нативній, так і в опроміненій ультрафіолетом культурі. При цьому

культивування опроміненої форми є продуктивнішим: кількість клітин дріжджів збільшується на 30 % порівняно із монокультурою, а вміст специфічних каротиноїдів – більше ніж в 2 рази.

Застосування живих кормів, збагачених каротиноїдами мікробного походження, дозволяє в 1,3 рази підвищити темпи приросту маси у личинок осетрових риб. Використання технології біоінкапсуляції поліненасичених жирних кислот у кормові організми також забезпечує пришвидшення масонакопичення у ранньої молоді осетрових риб та скорочення смертності, більше, ніж у два рази.

Скидна вода з рибоводної рециркуляційної системи може бути використана як ефективне культиваційне середовище для нарощення біомаси кормового фіто- та зоопланктону. Заміщення синтетичних культиваційних середовищ на скидну воду не викликає зниження продуктивності альгокультур, забезпечує інтенсифікацію наростання культур прісноводних гіллястовусих. При цьому погіршення поживної цінності культур кормових організмів не відбувається. Використання скидної води як середовища в біотехнології культивування фіто- та зоопланктону дозволяє істотно зменшити собівартість біомаси кормових водних організмів для забезпечення потреб аквакультури.

Використання γ -кротонолактонвмісного препарату ДОН-1R в технології нарощення біомаси кормового зоопланктону забезпечує пришвидшення росту культур без втрати їх нутрієнтної цінності. Використання базальтового туфу з родовища «Полицьке 2» забезпечує ефективне звільнення води від розчинних форм нітрогену при періодичному культивуванні кормового зоопланктону. Використання природного та термічно активованого базальтового туфу позитивно впливає на динаміку росту монокультур кормових організмів, забезпечує збільшення максимальної їх щільності, пролонгує термін експлуатації культиваційного середовища.

РОЗДІЛ. 7. ФУНКЦІОНУВАННЯ СИСТЕМИ ВІДНОВЛЕННЯ МЕТГЕМОГЛОБІНУ В ЕРИТРОЦИТАХ РИБ ЗА УМОВ НІТРИТНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

Серед основних факторів якості води в установках замкнутого водопостачання особливої уваги і постійного моніторингу вимагають азотні показники. Як відомо, нітроген в рибоводних системах представлений у формі аміаку (NH_3), іонів амонію (NH_4^+), нітритів (NO_2^-) і нітратів (NO_3^-). Надходження сполук нітрогену у водне середовище частково зумовлено життєдіяльністю самих об'єктів аквакультури, адже основним продуктом білкового метаболізму у риб є амоній. Крім того, інтенсивне вирощування риби в УЗВ відбувається при використанні високобілкових кормів [80], які є додатковими джерелами нітрогену у водному середовищі.

Ефективним засобом контролю над вмістом високотоксичних для риб амонію і нітритів є відрегульована робота біофільтрів. Саме у біофільтрах завдяки роботі нітрифікуючих бактерій відбувається двостадійний процес нітрифікації, при якому на першому етапі за участю бактерій роду *Nitrosomonas* відбувається конверсія амонію в нітрити, які в подальшому окислюються в нітрати завдяки роботі іншої групи нітрифікуючих бактерій – *Nitrobacter* [344]. Оскільки перша стадія окислення амонію в нітрит має значно більший енергетичний вихід, ніж хімічна реакція окислення нітриту в нітрат, мікрофлора, що здійснює першу стадію нітрифікації, росте набагато швидше. Таким чином, виникає можливість накопичення в середовищі нітритів, що особливо часто виникає в перші 4–8 тижнів при стартовому запуску біофільтрів [271]. Крім того, розбалансування процесів нітрифікації з подальшою можливістю амонійно-нітритної інтоксикації риб, може відбуватися навіть

при незначній нестачі кисню, особливо при підвищеній щільності посадки в УЗВ [339].

Основним проявом нітритної інтоксикації є посилене формування в еритроцитах метгемоглобіну (MtHb). Гемоглобін, перетворюючись в метгемоглобін при переході заліза гема в форму Fe^{3+} , втрачає свою основну кисень-транспортну функцію, що зумовлює розвиток гемічної гіпоксії [318]. Гемоглобін риб характеризується низькою стійкістю до окислення, тому навіть у фізіологічних умовах рівень MtHb у них може варіювати в широких межах [96]. Відсутність при цьому видимих ознак інтоксикації пояснюється ефективним функціонуванням багатокomпонентної метгемоглобінредуктазної системи. Неферментативне відновлення метгемоглобіну відбувається за участю глутатіону і аскорбінової кислоти [83]. Однак, основним фактором, який контролює рівень оксигенації-дезоксигенації гемоглобіну, є функціонування ферменту NADH-залежної метгемоглобінредуктази (NADH-Н-цитохром b_5 -редуктаза, КФ 1.6.2.2.), який специфічно переносить електрони від NADH через цитохром b_5 на метгемоглобін [316; 323]. Проте робота системи відновлення метгемоглобіну в гемоглобін може виявитися заблокованою при високих концентраціях нітритів.

Відповідно, важливо визначити вплив нітритної інтоксикації на вміст метгемоглобіну і функціонування системи його відновлення в еритроцитах прісноводних риб, які традиційно вирощуються в умовах аквакультури, зокрема, таких як карась сріблястий (*Carassius gibelio* (Bloch)), короп звичайний (*Cyprinus carpio* Linnaeus), товстолобик білий амурський (*Hypophthalmichthys molitrix* (Valenciennes, 1846)), стерлядь прісноводна (*Acipenser ruthenus* Linnaeus).

Проведені дослідження показали, що інкубація еритроцитів в середовищі зі зростаючими концентраціями NaNO_2 у всіх досліджуваних

видів риб призводить до збільшення вмісту метгемоглобіну в порівнянні з контрольними значеннями (рис. 7.1).

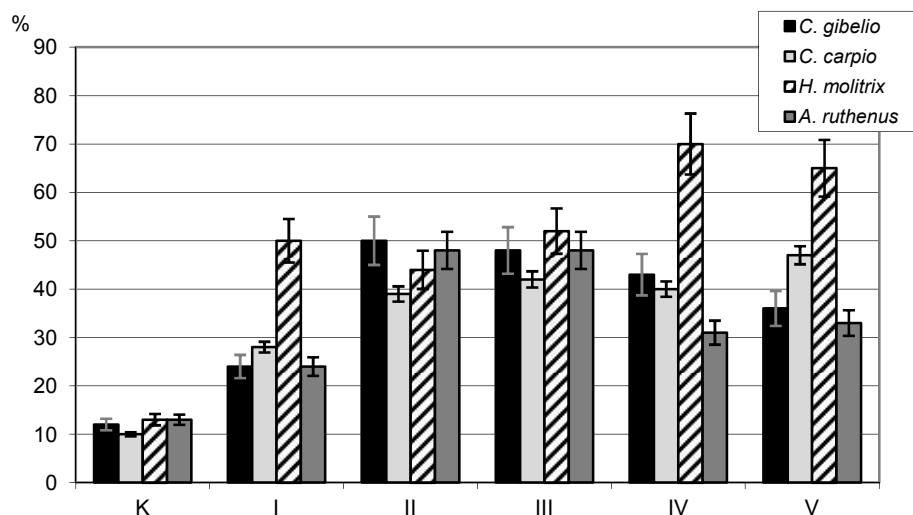


Рис. 7.1. Вміст метгемоглобіну в еритроцитах прісноводних риб при дії різних концентрацій NaNO_2

Примітка (тут і далі): К – контроль, I – 7,25 ммоль / л NaNO_2 , II – 14,5 ммоль / л, III – 72,5 ммоль / л, IV – 145,0 ммоль / л, V – 217,5 ммоль / л.

Відзначимо, що еритроцити всіх досліджуваних видів риб, окрім товстолобика, практично однаково реагують на концентрації NaNO_2 , близькі до тих, які формуються в плазмі крові у відповідь на дію напівлетальних доз у навколишньому середовищі (II, III групи). Видові відмінності простежуються при використанні як менших (I група), так і набагато більших концентрацій нітритів (IV, V групи). Найбільш виразно, як видно з діаграми, на підвищення концентрації NaNO_2 реагують еритроцити білого товстолобика (рис. 7.1).

Наявність таксономічно обумовлених відмінностей в характері накопичення метгемоглобіну показано в роботах ряду авторів [221; 225; 299; 323; 339]. Можна припустити, що в основі видової специфіки накопичення метгемоглобіну внаслідок дії нітритів лежать функціональні

особливості як безпосередньо метгемоглобінредуктазної, так і антиоксидантної системи в еритроцитах різних видів риб.

Відомо, що в еритроцитах з високою швидкістю ідуть процеси утворення вільних радикалів внаслідок присутності в цих клітинах високих концентрацій кисню і постійних процесів оксигенації-деоксигенації гемоглобіну. Це призводить до того, що в еритроцитах в результаті аутокаталітичних реакцій утворюються пероксиди і гідропероксиди ліпідів. Процес перетворення гемоглобіну в метгемоглобін також протікає на фоні утворення активних форм кисню (АФК) та інтенсифікації вільнорадикального окислення біомолекул (рис. 7.2).

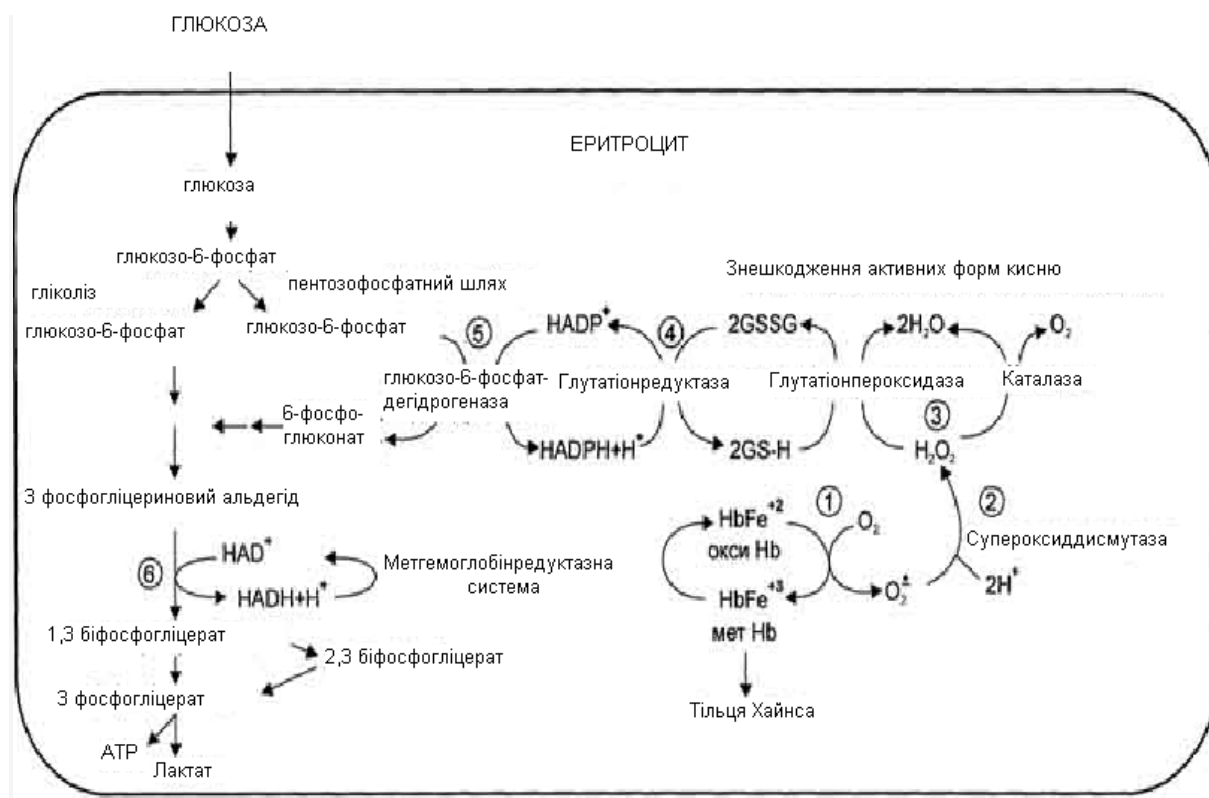


Рис. 7.2. Утворення і знешкодження активних форм кисню в еритроциті [5]

У свою чергу при аутоокисленні гемоглобіну в метгемоглобін в еритроцитах утворюється значна кількість супероксидного радикалу [6]. Супероксид-аніон радикал провокує утворення H₂O₂, що має здатність

відновлюватись з утворенням гідроксильного радикалу $\text{OH}\cdot$. З іншого боку, іони Fe^{2+} , які вивільняються при утворенні великої кількості MetHb, виступають в ролі ініціаторів вільнорадикальних процесів [166], у тому числі і окислювальної модифікації білків.

Основними маркерами окислювальної модифікації білків є їх карбонільні похідні – стабільні продукти, що утворюються за участю амінокислотних залишків треоніну, проліну, аргініну, лізину з утворенням аддуктів Міхаеля. Першим етапом окисного карбонілювання протеїну є відщеплення гідрогену від α -вуглецевого атому амінокислотного залишку з утворенням карбонільного радикалу, при взаємодії якого з O_2 утворюється алкілперокси-радикальна проміжна сполука, яка, в свою чергу, здатна послідовно перетворюватись на оксирадикал та гідроксилпохідне протеїну. Також карбонільні похідні білків можуть утворюватись при взаємодії деяких амінокислотних залишків з продуктами пероксидного окислення ліпідів. Наслідком модифікацій в первинній структурі є зміна просторової організації білка. Кисневі радикали здатні впливати на вторинну й третинну структури протеїнів, підвищуючи їх гідрофобність. Збільшення гідрофобності призводить до появи агрегатів, які утворюються шляхом виникнення міжмолекулярних зшивок, іонних та гідрофобних взаємодій між молекулами. Також можливою є появи білкових агрегатів і серед гемопротеїнів, зокрема гемоглобіну, в результаті утворення міжмолекулярних ковалентних зшивок за умов вільнорадикального окислення [75].

Нами встановлено, що зростання вмісту карбонільних похідних в еритроцитах коропових риб відбувається лише при порівняно високих концентраціях нітрит-іону в інкубаційному середовищі (рис. 7.3 А).

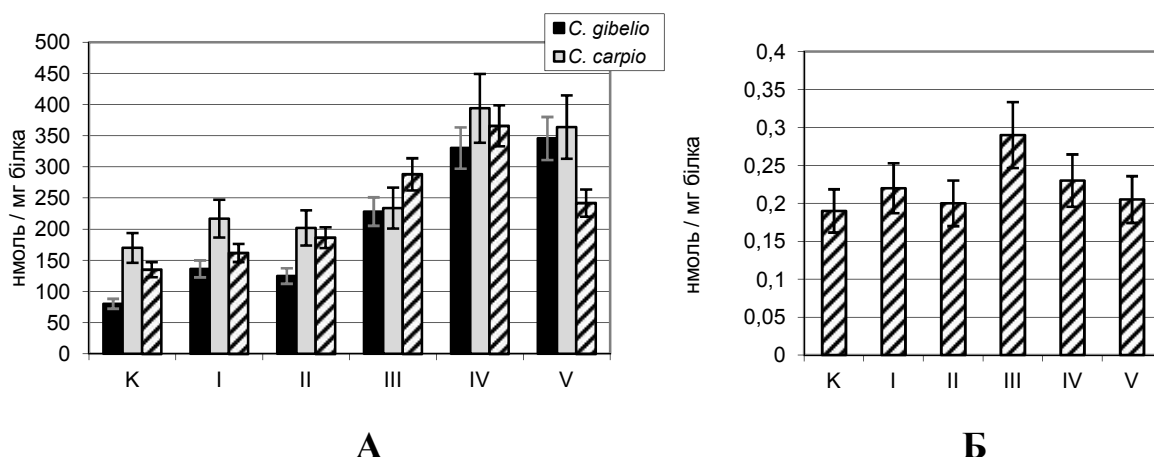


Рис. 7.3. Вміст карбонільних похідних білків в еритроцитах коропових риб (А) та SH-груп білків в еритроцитах білого товстолобика (Б) за дії різних концентрацій NaNO_2

Окислювальна модифікація білків може проявлятися в окисленні їх сульфгідрильних груп, відповідно оцінку ступеня ОМБ можна також проводити за зміною вмісту SH-груп протеїнів. На відміну від накопичення карбонільних похідних зменшення концентрації тіолових груп в ході окислювальної модифікації білків вважається маркером більш пізнього виснаження резервних можливостей клітини при оксидативному стресі [34]. Тіолвмісні білки в клітині беруть участь практично в усіх ключових біохімічних процесах. Окислення тіолових груп ензимів активними формами кисню призводить до утворення дисульфідних зв'язків, які за певних умов можуть сприяти агрегації протеїну або утворенню сульфїнової та сульфоновної кислот. Модифікація SH-груп, які знаходяться в активному центрі ензиму, неминує призводить до інгібування його активності.

Як вже було зазначено вище одними з найбільш чутливих до підвищених концентрацій нітритів виявились еритроцити білого товстолобика. Дія нітритів у найменшій із досліджуваних концентрацій стимулювала стрімке накопичення метгемоглобіну (рис. 7.1), проте достовірне підвищення вмісту карбонільних похідних, яке свідчило про

проходження процесів ОМБ, було викликане достатньо високими концентраціями нітритів (рис. 7. 3 А). Ще менш вираженим був вплив нітритів на вміст сульфгідрильних груп білків у еритроцитах даного виду риби (рис. 7. 3 Б). Це може бути зумовлено ефективною роботою систем антиоксидантного захисту еритроцитів, а також посиленням розщепленням окислених протеїнів пептид-гідролазними комплексами.

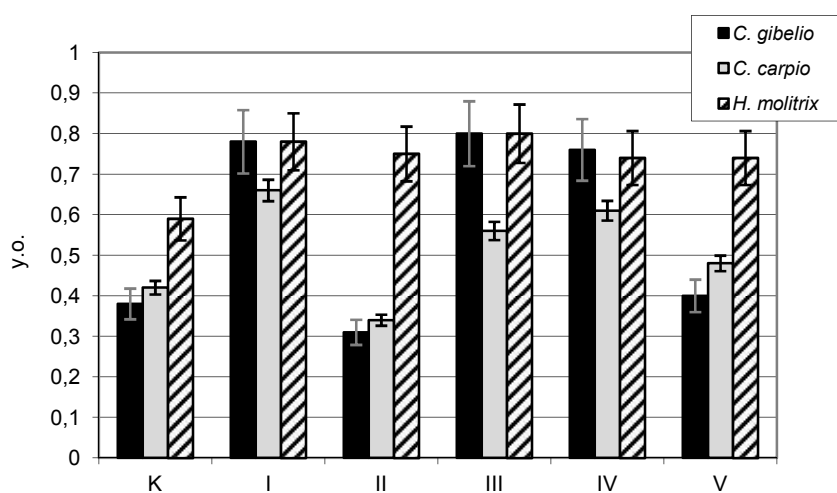
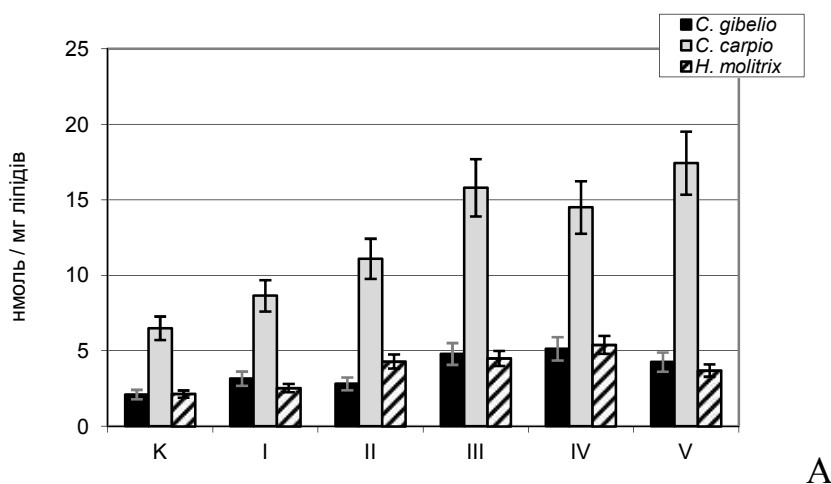
Тіолдисульфідна система реагує на будь-який вплив внутрішньої чи зовнішньої природи зміною свого окислювально-відновлювального стану, який можна охарактеризувати тіолдисульфідним відношенням (ТДВ), тобто співвідношенням концентрацій $-SH-$ і $-SS-$ груп (SH/SS). Зміна редокс-рівноваги в цій системі носить різноспрямований (фазовий) характер і залежить від сили і тривалості діючого фактору. Тобто, першопочаткові зміни в ТДВ, що характеризуються зсувом редокс-рівноваги в сторону відновлення, змінюються на протилежне – зсувом редокс-рівноваги в сторону окислення [34]. Цим, очевидно можна пояснити деяке підвищення вмісту відновлених сульфгідрильних груп у білках еритроцитів товстолобика при дії нітритів у концентрації 72,5 ммоль / л, тоді як дія більших концентрацій нітрит-іону не викликала підвищення вмісту SH-груп (рис. 7. 3 Б).

Стосовно ж процесів окислення ліпідів, нами встановлено, що достовірне порівняно з контролем зростання рівня ТБК-активних продуктів в еритроцитах коропа та білого товстолобика спостерігається вже з концентрації $NaNO_2$ на рівні 14,5 ммоль/л (рис. 7.4 А), тоді як рівень накопичення карбонільних похідних білків є достовірно вищим за контрольні значення при дії значно більших концентрацій нітритів.

Таким чином, можна стверджувати про більшу чутливість ліпідів еритроцитів до дії токсиканта у порівнянні з білками. Імовірно, що процеси ПОЛ за досліджуваних умов є первинними, вільнорадикальні

продукти саме ліпідної природи стимулюють процеси накопичення карбонільних похідних білків.

Варто зазначити, що хоча у сріблястого карася нітриту також провокують накопичення ТБК-активних продуктів, проте рівень їх накопичення порівняно з контрольними значеннями значно менший, ніж в інших двох видів, ефект проявляється при дії більших концентрацій ліпідів. Цей факт також може бути одним із пояснень високої витривалості карася до дії несприятливих умов середовища та вищого рівня його виживаності в умовах гіпоксії в евтрофікованих водоймах.



Б

Рис. 7.4. Вміст ТБК-активних продуктів (А) та рівень загальної антиоксидантної активності (Б) в еритроцитах корошових риб при дії різних концентрацій NaNO_2

Відомо, що АФК мають найвищу константу взаємодії з поліненасиченими жирними кислотами (ПНЖК), які є основними структурними компонентами фосфоліпідів мембран. Особливо високий вміст ПНЖК в мембранах клітин водних організмів [267]. Пероксидне окислення ліпідів супроводжується утворенням пероксидів, кетонів, альдегідів та інших сполук. Відмінною рисою цих реакцій є її ланцюговий, самоіндукований характер. Оскільки розгалуженість зазначених ланцюгових реакцій часто зумовлена присутністю іонів металів перехідної валентності, то зміна ступеня окислення заліза в ході посиленого утворення метгемоглобіну за досліджуваних умов може призводити до додаткового формування ТБК-активних продуктів. Відомо, що утворення карбонільних протеїнових похідних може відбуватися при взаємодії залишків амінокислот (особливо, гістидину, цистеїну та лізину) з ненасиченими альдегідами, які утворюються при вільнорадикальному окисленні поліненасичених жирних кислот [75].

Таким чином, встановлене нами посилене формування метгемоглобіну в еритроцитах досліджуваних прісноводних риб за дії NaNO_2 може спричинити наростання вмісту продуктів пероксидного окислення ліпідів та окислювальної модифікації білків, зокрема карбонілювання протеїнів. Відсутність в окремих видів відмінностей від контрольних значень для вказаних показників у I та II групах, очевидно, пов'язана з ефективною роботою системи антиоксидантного захисту еритроцитів за дії найменших з досліджуваних концентрацій нітритів.

У всіх хребетних тварин, в тому числі і у риб, за фізіологічно нормальних умов надмірному накопиченню метгемоглобіну запобігає робота NADH-Н-цитохром b_5 -редуктази (NADH-метгемоглобінредуктази або діафрази-1), яка забезпечує трансформацію 70-90% MtHb назад в гемоглобін [83; 323]. Даний ензим виконує роль специфічного переносника

електронів від утвореного в гліцеральдегідфосфатдегідрогеназній реакції гліколізу NADH до MtHb, при цьому залізо в гемі переходить із тривалентного стану в двовалентний.

Проте, результати досліджень показали, що збільшення процентного вмісту метгемоглобіну при використанні токсичних концентрацій нітритів або не викликає достовірного зростання метгемоглобінредуктазної активності, як у випадку з еритроцитами стерляді, або призводить до істотного її пригнічення, як у випадку з еритроцитами сріблястого карася (рис. 7.5 А).

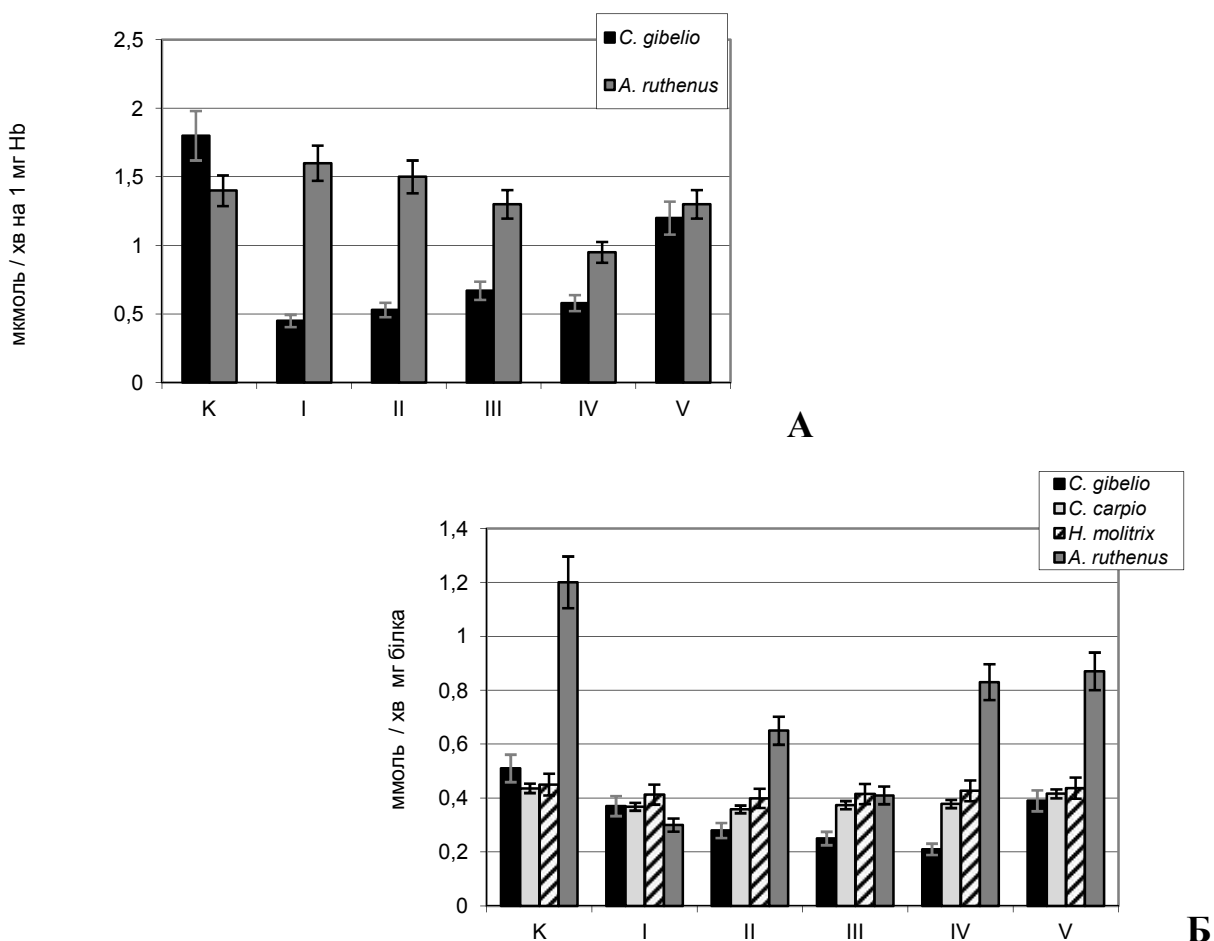


Рис. 7.5. Метгемоглобінредуктазна (А) та каталазна (Б) активності в еритроцитах прісноводних риб за дії різних концентрацій NaNO_2

Взаємодія нітритів з іоном заліза гема гемоглобіну дозволяє припустити можливість подібних взаємодій і з іншими гем-вмісними

протеїнами, зокрема каталазою, цитохромом b_5 в складі метгемоглобінредуктази [283].

Непрямим підтвердженням припущення про інгібіторну дію нітрит-іонів на метгемоглобінредуктазний комплекс внаслідок зміни ступеня окислення іона заліза гема служать результати досліджень каталазної активності еритроцитів риб. В еритроцитах стерляді та сріблястого карася чітко спостерігається пригнічення каталазної активності при дії навіть найменших серед досліджуваних концентрацій нітритів (рис. 7.5 Б). Відомо, що каталаза складається з чотирьох ідентичних субодиниць, кожна з яких містить простетичну гем-групу, що включає іон заліза. Нітрит-аніони (при концентраціях від 10^{-3}М і вище) можуть взаємодіяти з залізом гема в активному центрі каталази і пригнічувати тим самим активність ферменту [62]. Іншою причиною пригнічення каталазної активності може бути пошкодження апоферменту вільними радикалами в процесі ОМБ. Відомо, що такі ферменти антиоксидантного захисту як супероксиддисмутаза, глутатіонпероксидаза та інші самі можуть бути підданими окислювальній модифікації, що призводить до зменшення їх каталітичної активності [324].

Окрім того, відомо, що для каталази та супероксиддисмутази характерним є явище перехресної регуляції активності, що проявляється в їх негативній кореляції [38]. Посилення роботи супероксиддисмутази внаслідок накопичення супероксиданіон-радикалу, який генерується при перетворенні гемоглобіну в метгемоглобін за дії нітритів, може також негативно впливати на каталазну активність еритроцитів.

Зовсім інші залежності спостерігали при дослідженні каталазної активності у еритроцитах коропа та товстолобика (рис. 7.5 Б). Так, рівень каталазної активності у них практично незмінний при застосуванні усіх досліджуваних концентрацій нітрит-іонів. Випадки відсутності зміни

каталазної активності в тканинах риб на дію різних ксенобіотиків неодноразово були описані в науковій літературі [145; 366].

Відомо, що каталазна активність еритроцитів риб характеризується значними міжвидовими відмінностями та коливається в досить широких межах [359], що також видно за результатами проведених досліджень на прикладі контрольної групи (рис. 7.5 Б). На рівень активності ферментів антиоксидантної системи, у тому числі і каталази, у різних видів риб впливають не лише присутність ксенобіотиків, температура, концентрація розчиненого кисню та вік особин, але й філогенетичні зв'язки і трофічні особливості [270]. Так, у нашому випадку каталазна активність в еритроцитах контрольної групи представників родини коропових, а саме карася, коропа та товстолобика – достовірно не відрізняється, натомість вона набагато нижча, ніж у стерляді, яка знаходиться у достатньо віддалених філогенетичних зв'язках з короповими. Крім того, активність каталази на відміну від супероксиддисмутази вища у хижих та всеїдних риб порівняно з рослиноїдними [270; 359]. Стерлядь хоч і є мирною рибою, проте в природних умовах основу її раціону складають безхребетні тварини [238], тоді як короп та карась у значній мірі можуть харчуватись детритом, а білий товстолобик взагалі є фітопланктонофагом.

Результати проведених досліджень із визначення рівня загальної антиоксидантної активності показали, що максимальне зростання вказаного показника в еритроцитах представників коропових риб спостерігається вже при застосуванні найменшої з досліджуваних концентрацій нітритів (рис. 7.4 Б). Це свідчить про зростання здатності еритроцитів вказаних видів риб пригнічувати окислювальні процеси, які, активуються при застосуванні ксенобіотиків, зокрема підвищених концентрацій нітрит-іонів.

Високий порівняно з контролем рівень загальної антиоксидантної активності на фоні незмінної або пригніченої активності антиоксидантних ферментів, який ми спостерігали на прикладі каталази (рис. 7.5 Б), може забезпечуватись низькомолекулярними антиоксидантами, зокрема такими як відновлений глутатіон та аскорбінова кислота. Вважається, що низькомолекулярні антиоксиданти еволюційно з'явилися раніше, ніж ферменти і тому в більш примітивних форм, зокрема в риб, відіграють провідну роль в антиоксидантному захисті [270].

Найбільш ймовірно, що при високих концентраціях нітритів за умов пригнічення активності метгемоглобінредуктази основну функцію редукції MtHb беруть на себе низькомолекулярні компоненти.

Вагомий внесок у формування антиоксидантного потенціалу еритроцитів належить глутатіону, редокс-система якого (GSH-GSSG) служить буфером, що захищає від деструктивної дії активних форм кисню.

Легке окислення сульфгідрильних груп відновленого глутатіону захищає SH-групи гемоглобіну і ряду білків і ферментів еритроцитів від вільнорадикального окислення. Таким чином, можливість прямого відновлення метгемоглобіну і антиоксидантні властивості GSH зумовлюють його помітну роль в системі підтримки структури і функцій гемоглобіну. Показано, що для еритроцитів риб характерна висока концентрація GSH. Співвідношення GSH / Hb у них значно вище, ніж у ссавців [96; 270].

Результати проведених досліджень показали, що в еритроцитах досліджуваних нами видів рівень відновленого глутатіону коливається в широких межах – від 0,12 до 0,85 ммоль / мг білка у стерляді та коропа відповідно (рис. 7.6 А).

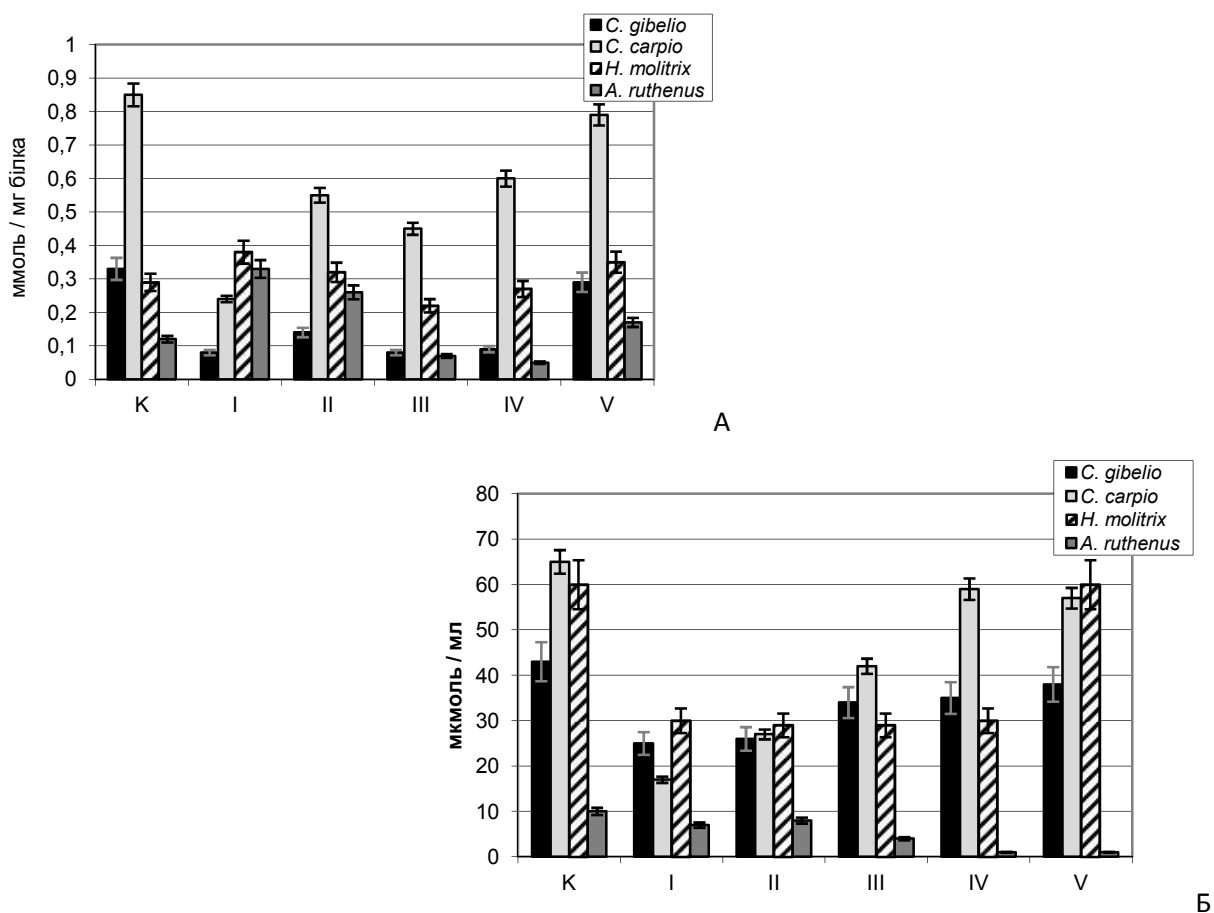


Рис. 7.6. Вміст відновленого глутатіону (А) та відновленого аскорбату (Б) в еритроцитах прісноводних риб при дії різних концентрацій NaNO_2

Для коропа і карася чітко простежується тенденція до зниження рівня відновленого глутатіону в порівнянні з контролем в еритроцитах перших чотирьох експериментальних груп. Таким чином, GSH динамічно реагує на зростання вмісту метгемоглобіну і ТБК-активних продуктів та активно використовується як відновлювальний агент при дії нітритів. Слід зазначити, що вміст GSH в еритроцитах всіх досліджуваних видів риб при інкубації з максимальною з використаних концентрацій NaNO_2 (217,5 ммоль / л) не відрізняється від контрольних значень. Відносно товстолобика і стерляді нами відзначено понижений вміст GSH тільки в III та IV експериментальних групах. Ймовірно, високі концентрації глутатіону в еритроцитах I і II груп забезпечують активну роботу аскорбатної редокс-

системи, оскільки відновлення дегідроаскорбінової кислоти в аскорбінову відбувається досить швидко в присутності сульфгідрильних сполук, таких як глутатіон, цистеїн [83].

Для перевірки цього припущення, а також оцінки ролі аскорбінової кислоти в еритроцитах при нітритних інтоксикаціях нами було досліджено вміст відновленого аскорбату за вищевказаних умов. Отримані результати вказують на зменшення вмісту аскорбінової кислоти в еритроцитах усіх досліджуваних видів риб за дії усіх досліджуваних концентрацій нітритів (рис. 7.6 Б). Знижений вміст відновленого аскорбату в еритроцитах риб при всіх використовуваних концентраціях нітриту, очевидно, пов'язано з переходом відновленої аскорбінової кислоти в форму дегідроаскорбінової після відповідного використання першої в якості відновлювального агента і антиоксиданту. Як відомо, відновлений аскорбат характеризується здатністю безпосередньо взаємодіяти з активними формами кисню, а також брати участь у відновленні інших низькомолекулярних антиоксидантів (GSH, α -токоферол) шляхом неферментативних та ензиматичних реакцій. Зокрема, показано, що аскорбат здатний активно знешкоджувати супероксиданіон-радикал, а пероксид водню може відновлюватись аскорбіновою кислотою як безпосередньо, так і за допомогою ензиму аскорбатпероксидази [309]. Один із можливих шляхів регенерації аскорбінової кислоти з дегідроаскорбінової відбувається за двохелектронним механізмом за участю відновленого глутатіону. Одержані нами дані також вказують на супряжену роботу вказаних сполук.

Як і глутатіон, аскорбат здійснює не ензиматичне відновлення метгемоглобіну до гемоглобіну [83], забезпечуючи тим самим захист еритроцитів від токсичного впливу нітритів [144]. На відміну від людини, приматів та деяких інших ссавців (морська свинка), у яких відсутні два ферменти – D-глюкуронредуктаза і L-гулоно- γ -лактонооксидаза, що

забезпечують синтез аскорбінової кислоти з глюкози [309], аскорбінова кислота *de novo* утворюється в організмі деяких примітивних груп риб [194]. Певний період вважалось, що вітамін С в обмеженій кількості може утворюватись в організмі коропа, проте результати подальших досліджень даного питання засвідчили відсутність здатності до синтезу аскорбінової кислоти у костистих риб або так званих телеостей [171], до яких належать у тому числі і коропові риби. Існують суперечливі дані щодо активності гулонолактонооксидази – останнього ензиму шляху біосинтезу аскорбату, в осетрових [185; 285; 313]. Незважаючи на показану деякими авторами активність даного ферменту і, відповідно, можливість синтезу аскорбату деякими осетровими, для них все одно необхідним залишається додаткове надходження вітаміну С з екзогенних джерел [348]. При цьому треба враховувати, що надто високі концентрації аскорбату можуть викликати не антиоксидантний, а прооксидантний ефект [144; 219].

Таким чином, вирощування риб в УЗВ в умовах підвищеної щільності посадки при незадовільній роботі біофільтра може супроводжуватись накопиченням нітрит-іонів у воді. Акумуляція нітритів в еритроцитах супроводжується посиленням формування метгемоглобіну, максимальна частка якого в окремих видів може досягати 70%. Накопичення метгемоглобіну супроводжується підвищенням вмісту продуктів окисної модифікації білків та перикисного окислення ліпідів. Високі концентрації нітритів пригнічують роботу ензиматичних ланок відновлення метгемоглобіну та антиоксидантної системи, проте загальна антиоксидантна активність залишається підвищеною. Очевидно, за дії високих концентрацій нітритів пріоритетними у відновленні MtHb та у забезпеченні антиоксидантного захисту стають неензиматичні механізми за участю низькомолекулярних сполук, таких як відновлений глутатіон та аскорбат.

ВИСНОВКИ

У дисертації обґрунтовано доцільність застосування біотехнологічних прийомів штучного відтворення риб у заходах зі збереження біологічного різноманіття Карпатського регіону. На основі аналізу актуального стану рибних ресурсів басейнів Пруту, Сірету та Дністра в межах західного регіону України показані можливі шляхи трансформації іхтіокомплексів у коротко та довготривалій перспективі. Розроблено науково-методичне обґрунтування біотехнології штучного відтворення стерляді прісноводної з дністровської популяції *Acipenser ruthenus* Linnaeus, вирезуба причорноморського *Rutilus frisii* (Nordmann), марени звичайної *Barbus barbus* (Linnaeus) задля їх реінтродукції у природні водойми.

Отримані результати досліджень дозволяють зробити наступні висновки:

1. Іхтіофауна Українських Карпат та Передкарпаття представлена 76 видами з 19 родин, які об'єднані в 11 рядів, що складає 57% видового різноманіття рибоподібних та риб, які зустрічаються у прісних водах України. При цьому, частка раритетного компоненту в іхтіофауні досліджуваного регіону складає більше 50% від загальної кількості присутніх тут видів. Попри велике видове різноманіття іхтіокомплексів водойм регіону, їх фактична рибопродуктивність вкрай низька і не досягає 30% потенційної рибопродуктивності за рівнем розвитку природної кормової бази. Низький рівень рибних запасів на фоні відповідної нормативним значенням якості води та високого розвитку трофічної бази свідчить про порушення процесів природного відтворення в популяціях переважної більшості видів риб. Одним з найбільш дієвих шляхів вирішення ситуації, що склалася, є здійснення штучного розмноження в

умовах індустріальної аквакультури з подальшою реінтродукцією отриманої молоді у природні гідроекосистеми.

2. Вперше розрахована екологічна ємність водойм регіону щодо обсягів зариблення – об'єм рибопосадкового матеріалу раритетних видів для басейнів Дністра, Пруту та Сірету складає 350 тис. екземплярів підрощеної молоді стерляді, 41 млн. – вирезуба та 36,5 млн. екземплярів марени на рік.

3. З особин дністровської стерляді, вилучених з природних умов, та їх нащадків, отриманих шляхом штучного розмноження, сформоване стійке репродуктивне стадо, що дало можливість вперше провести зариблення Дністра даним видом. Розроблено технологічний режим штучного розмноження дністровської стерляді в умовах рибоводних установок замкнутого водопостачання. Показано, що в умовах рециркуляційних систем самки верхньодністровської стерляді вперше досягають статевої зрілості у трирічному віці, при цьому дозріває 12,5% особин при середній масі тіла 1160 г, а в чотирирічному віці при середній масі тіла 1436 г дозрівають 23,5% самок. Відносна робоча плодючість вперше нерестуючих трирічних самок склала 5,0 тис., чотирирічних – 9,9 тис. ікринок на 1 кг маси тіла.

4. Вперше показана можливість застосування дріжджів роду *Rhodotorula* в технології насичення прісноводних кормових організмів *Moina macrocarpa* та *Simoccephalus vetulus* каротиноїдами без втрати ними поживної цінності. Розроблено технологічні режими біоінкапсуляції каротиноїдів та поліненасичених жирних кислот у кормові організми, що дозволяє отримати живі корми з підвищеним вмістом астаксантину і його естерів, а також ейкозопентаєнової, докозогексаєнової та ліноленової жирних кислот.

5. Встановлено, що спільне культивування каротинсинтезуючих дріжджів та молочнокислих бактерій призводить до підвищення накопичення біомаси *Rhodotorula glutinis* та зростання їх каротинсинтезуючої активності як у нативній, так і в опроміненій ультрафіолетом культурі. При цьому культивування опроміненої форми є продуктивнішим: кількість клітин дріжджів збільшується на 30 % порівняно із монокультурою, а вміст специфічних каротиноїдів – більше ніж в 2 рази.

6. Продемонстрована ефективність застосування біотехнології корекції нутрієнтного складу живих кормів шляхом їх біоінкапсуляції есенціальними сполуками в процесі підрощення риб в умовах рециркуляційних систем. Застосування живих кормів, збагачених каротиноїдами мікробного походження, дозволяє в 1,3 рази підвищити темпи приросту маси у личинок осетрових риб. Використання технології біоінкапсуляції поліненасичених жирних кислот у кормові організми також забезпечує пришвидшення масонакопичення у ранньої молоді осетрових риб та скорочення смертності, більше, ніж у два рази.

7. Показано, що скидна вода з рибоводної рециркуляційної системи може бути використана як ефективне культиваційне середовище для нарощення біомаси кормового фіто- та зоопланктону. Заміщення синтетичних культиваційних середовищ на скидну воду не викликає зниження продуктивності альгокультур, забезпечує інтенсифікацію наростання культур прісноводних гіллястовусих. При цьому погіршення поживної цінності культур кормових організмів не відбувається. Використання скидної води як середовища в біотехнології культивування фіто- та зоопланктону дозволяє істотно зменшити собівартість біомаси кормових водних організмів для забезпечення потреб аквакультури.

8. Вперше показана можливість використання γ -кротонолактонвмісного препарату ДОН-1R в умовах установок замкнутого водопостачання. Встановлено, що додавання в гранульовані корми препарату ДОН-1R при вигодовуванні осетрових риб стимулює підвищення темпів масонакопичення. Найбільш виражено стимулюючий ефект препарату спостерігається при його застосуванні з кормами нижчої якості, натомість при використанні високоякісних кормів вплив ДОН-1R на темпи масонакопичення незначний. При цьому згодовування кормів із додаванням ДОН-1R супроводжується реактивними змінами в печінці. Враховуючи це γ -кротонолактонвмісний препарат ДОН-1R як стимулятор росту доцільно використовувати лише протягом нетривалого періоду при вирощуванні товарної риби. Встановлено, що використання γ -кротонолактонвмісного препарату ДОН-1R в технології нарощення біомаси кормового зоопланктону забезпечує пришвидшення росту культур.

9. Вирощування риб у рециркуляційних системах при незадовільній роботі біофільтра в умовах підвищеної щільності посадки супроводжується накопиченням нітрит-іонів у воді. Показано, що акумуляція нітритів в еритроцитах супроводжується посиленням формуванням метгемоглобіну, максимальна частка якого в окремих видів може досягати 70%. Накопичення метгемоглобіну супроводжується підвищенням вмісту продуктів окисної модифікації білків та перикисного окислення ліпідів, що призводить до пригнічення функціонування ензиматичних ланок системи відновлення метгемоглобіну та антиоксидантного захисту, проте загальна антиоксидантна активність залишається підвищеною. Відповідно, за дії високих концентрацій нітритів пріоритетними у відновленні MtHb та у забезпеченні антиоксидантного захисту стають неензиматичні механізми за участю низькомолекулярних

сполук, таких як відновлений глутатіон та аскорбат, що робить доцільним введення останнього до складу гранульованого корму.

10. Доведено, що використання базальтового туфу з родовища «Полицьке 2» забезпечує ефективне звільнення води від розчинних форм нітрогену, що дозволяє його використовувати для тонкої очистки води в рибоводних установках замкнутого водопостачання, а також при періодичному культивуванні кормового зоопланктону. Використання природного та термічно активованого базальтового туфу позитивно впливає на динаміку росту монокультур кормових організмів, забезпечує збільшення максимальної їх щільності, пролонгує термін експлуатації культиваційного середовища. Введення у гранульований корм базальтового туфу з родовища «Полицьке 2» забезпечує підвищення в межах нетоксичного діапазону вмісту Купруму та Мангану в цільній крові осетрів, що дозволяє рекомендувати даний туф як мінеральну добавку при виготовленні гранульованих кормів для осетрових риб.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Абросимова, Н.А., & Абросимов, С.С. (2012). Изменение липидного статуса и процессов перекисного окисления липидов производителей стерляди при заводском содержании. *Юг России: экология, развитие*, (2), 21–25.
2. Акімов, І.А. (Ред.). (2009). *Червона книга України. Тваринний світ*. Київ: Глобалконсалтинг.
3. Алимов, С.І., Яковлєва, Т. В., & Кулик, П. В. (2007). Відтворення осетрових риб Азовського моря. *Рибогосподарська наука України*, (2), 28–33.
4. Андреева, Л.И., Кожемякин, Л.А., & Кишкун, А.А. (1988). Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой. *Лабораторное дело*, (11), 41–43.
5. Арсан, О.М., Давидов, О.А., Євтушенко, М.Ю., & Жукинський, В.М. (2006). *Методи гідроекологічних досліджень поверхневих вод*. (В.Д. Романенко, ред.). Київ: Логос.
6. Атауллаханов, Ф.И., Витвицкий, В.М., Жаботинский, А.М., Кияткин, А.Б., & Пичугин, А.В. (1984). Стационарная зависимость скорости восстановления метгемоглобина от его концентрации в интактных эритроцитах человека. *Биохимия*, 49 (2), 193–197.
7. Байдалинова, Л.С., & Яржомбек, А.А. (2011). *Биохимия сырья водного происхождения*. Москва: МОРКНИГА.
8. Байдалинова, Л.С., Кривич, В.С., & Бахолдина, Л.П. (1977). *Методические рекомендации и указания по газовой хроматографии жирных кислот*. Калининград.
9. Балтаджі, Р.А. (2005). До питання визначення природної рибопродуктивності водойм. *Рибне господарство*, 64, 49–55.

10. Барулин, Н.В., Плавский, В.Ю., Шумский, К.Л., Атрощенко, Л.О., Новикова, Е.Г., Роговцов, С.В., & Лиман, М.С. (2016). *Рекомендации по воспроизводству осетровых рыб в рыбоводных промышленных комплексах с применением инновационных методов*. Горки: БГСХА, 2016.
11. Бедняков, Д. А., Неваленный, А. Н., & Новинский, В. Ю. (2012). Исследование некоторых характеристик ферментов, обеспечивающих процесс мембранного пищеварения у веслоноса и стерляди. *Материалы Всероссийской конференции с международным участием «Физиологические, биохимические и молекулярно-генетические механизмы адаптаций гидробионтов»* (с. 36–39). Борок.
12. Брайнбалле, Я. (2010). *Руководство по аквакультуре в установках замкнутого водоснабжения. Введение в новые экологические и высокопродуктивные замкнутые рыбоводные системы*. Копенгаген: Eurofish & FAO.
13. Бурнашев, М.С., Чепурнов, В.С., & Ракитина, Н.П. (1955). Рыбы Дубоссарского водохранилища и вопросы развития рыбного промысла в нем. *Ученые записки Кишиневского Госуниверситета*, 20 (Биологический), 7–29.
14. Бучацкий, Л.П. (2013). Биотехнология аквакультуры рыб. *Biotechnologia acta*, 6 (6), 45–57.
15. Бучацький, Л.П., Рудь, Ю.П., Залоїло, О.В., & Залоїло, І.А. (2018). *Сучасні методи біотехнології у рибництві*. Київ: ДІА.
16. Бызгу, С.Е., Дымчишена-Кривенцова, Т.Д., Набережный, А.И., Томнатик, Е.Н., Шаларь, В.М., & Ярошенко М.Ф. (1964). *Дубоссарское водохранилище (становление и рыбохозяйственное значение)*. Москва: Наука.

17. Вайнштейн, А.С. (1961). *Рыбы водоемов бассейна верхнего Днестра и их хозяйственное значение: автореф. дис. на соискание уч. степени кандидата биол. наук.* Киев.
18. Васильева, Л. М., Яковлева, А. П., Щербатова, Т. Г., Петрушина, Т. Н., Тяпугин, В. В., Китанов, А. А., ... Федосеева, Е. А. (2006). *Технологии и нормативы по товарному осетроводству в VI рыболовной зоне.* Москва: Изд-во ВНИРО.
19. Васильева, Л., Пилипенко, Ю., Корниенко, В., Шевченко, В., Кольман, Р., & Лендел, П. (2014). *Аквакультура осетрообразных.* Херсон: Гринь Д.С.
20. Ватин, Н.И., Чечевичкин, В.Н., & Чечевичкин, А.В. (2007). *Сорбционная очистка промышленных высококонцентрированных вод природными цеолитами от иона аммония.* Санкт-Петербург: Мур.
21. Галоян, Л.Л., Худий, О.І., Тертерян, С.В., Мрук, А.І., & Худа, Л.В. (2016). Застосування продукційних кормів різних виробників при вирощуванні райдужної форелі в умовах індустріальної аквакультури. *Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи)*, 8 (2), 189 – 194.
22. Гарасюк, О.А., Міщук, Є.В., & Рицко, О.І. (2018). Визначення проблем та стратегія управління розвитком територій об'єднаних громад. *Державне управління: удосконалення та розвиток*, (2). Режим доступу http://www.dy.nayka.com.ua/pdf/2_2018/28.pdf
23. Гарматюк, О.М., & Худий, О.І. (2007). Попередні дослідження показників зараження риб водойм Буковини паразитами *Ligula intestinalis* (Linnaeus) та *Pomphorhynchus laevis* (Muller). *Науковий вісник Чернівецького університету. Серія: Біологія*, (343), 22 – 29.
24. Гарматюк, О.М., & Худый, А.И. (2012). Анализ состояния изученности ихтиопаразитофауны реки Днестр. *Поведение, экология и*

- эволюция животных: монографии, статьи, сообщения. Сб. научных трудов РГУ имени С.А. Есенина (Серия Зоологическая). Т. 3 (с. 267–287). Рязань: НП «Голос губернии».*
25. Гарматюк, О.М., Корнюшин, В.В., & Худий, О.І. (2010). Про випадки ураження діоктофімідами представників родини Percidae у Дністровському водосховищі. *Стан та перспективи використання водного басейну Поділля: промислові, екологічні, туристичні аспекти, (13–14 жовтня 2010 р.): матеріали міжнар. наук.-практ. конф., проведеної у рамках Фестивалю риби (с. 62–64). Кам'янець-Подільський: ПДАТУ.*
 26. Годлевська, О., Парнікоза, І., Різун, В., Фесенко, Г., Куцоконь, Ю., Загороднюк, І., ... Іноземцева, Д. (2010). *Фауна України: охоронні категорії. Довідник.* (О. Годлевська & Г. Фесенко, Ред.) (Видання друге, перероблене та доповнене). Київ.
 27. Горский, С.В., & Яржомбек, А.А. (2003). *Справочные материалы по росту рыб: Осетровые рыбы.* Москва: Изд-во ВНИРО.
 28. Горячковский, А. М. (2005). *Клиническая биохимия в лабораторной диагностике.* Одесса: Экология.
 29. Госстандарт России. (2005). *ГОСТ 20264.2–88. Межгосударственный стандарт. Препараты ферментные. Метод определения протеолитической активности (с Изменением N 1).* Москва: ИПК Издательство стандартов.
 30. Госстандарт России. (2008). *ГОСТ Р 51899-2002. Комбикорма гранулированные. Общие технические условия. Введ. 2002–06–05.* Москва: СТАНДАРТИНФОРМ.
 31. Госстандарт России. (2011). *ГОСТ Р 54058-2010. Продукты пищевые функциональные. Метод определения каротиноидов.* Москва: Стандартиформ.

32. Грициняк, І.І., Смолянінов, К.Б., & Янович, В.Г. (2010). Обмін ліпідів у риб. Львів: Тріадаплюс.
33. Грициняк, І.І., Смолянінов, К.Б., Янович, Д.О., Вудмаска, І.В., & Янович, В.Г. (2009). Біологічна роль поліненасичених жирних кислот (ω -3) та особливості їх метаболізму у прісноводних риб. *Рибогосподарська наука України*, (1), 83–87.
34. Губский, Ю.И., Беленичев, И.Ф., Левицкий, Е.Л., Коваленко, С.И., Павлов, С.В., Ганчева, О.В., Марченко, А.Н. (2005). Токсикологические последствия окислительной модификации белков при различных патологических состояниях (обзор литературы). *Современные проблемы токсикологии*, 31 (3), 20–26.
35. Давыдов, О.Н., Лысенко, В.Н., Неборачек, С.И., & Куровская, Л.Я. (2012). Паразиты стерляди (*Acipenser ruthenus*, L., 1758) в естественных и искусственных водных объектах некоторых регионов. *Рибогосподарська наука України*, (2), 111–122.
36. Дзензерська, О.М., & Руденко, С.С. (2017). Сезонные особенности CNPстехиометрии трансграничных рек Северной Буковины. *Science and Education a New Dimension. Natural and Technical Sciences*, 14 (132), 10–13.
37. Доманчук, А.Г., Коржик, В.П., & Худий, О.І. (2017). Відтворення аборигенних видів риб у Дністрі: перші кроки. *Регіональні аспекти флористичних і фауністичних досліджень: матеріали Четвертої міжнар. наук.-практ. конф. (28–29 квіт. 2017 р., смт Путила, Чернівецька обл., Україна)* (с. 7–14). Чернівці: Друк Арт.
38. Доценко, О.И., Доценко, В.А., & Мищенко, А.М. (2010). Активность супероксиддисмутазы и каталазы в эритроцитах и некоторых тканях мышечей в условиях низкочастотной вибрации. *Физика живого*, 18 (1), 107–113.

39. Желтов, Ю.А., & Матвиенко, Н.Н. (2013). *Корма для профилактики и лечения заболеваний рыб*. Киев : Инкос.
40. Желтов, Ю.А., Дворецкий, А.И., Немировская, Е.В. & Дерень, О.В. (2013). Применение кормов микробиологического синтеза, искусственных аминокислот, ферментализатов БВК, мочевины и углеаммонийных солей (УАС) в кормлении рыб. *Рибне господарство України*, (2), 30–35.
41. Забитівський, Ю.М., Юрчак, С.В., Бобеляк, Л.Й., & Гевкан, І.І. (2014). Вплив ліпосомального препарату з вітамінів А, Е та мікроелементів Zn, Se, I на фізіологічний стан плідників коропа (*Cyprinus carpio*) у переднерестовий період. *Рибогосподарська наука України*, (4), 86–94.
42. Загороднюк, І., & Ємельянов, І. (2004). Гірські регіони як зони найвищого видового багатства наземних хребетних в Україні. *Ученые записки Таврического национального университета. Серия «Биология-Химия»*, 17 (2), 33–38.
43. Зинь, А. (2012). Прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз і мембранний транспорт у живих організмах. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*, 60, 21–39.
44. Кирица, Е.В. (2005). *Направленный синтез каротиноидов у дрожжей и перспектива их использования: дис. на соискание науч. степени докт. биол. наук: 03.00.23*. Академия наук Республики Молдова.
45. Киселев, А.Ю. (1999). *Биологические основы и технологические принципы разведения и выращивания объектов аквакультуры в установках с замкнутым циклом водообеспечения : автореф. дис. на соискание уч. степени док. биол. наук : спец. 03.00.10. «Ихтиология»*. Москва.
46. Кіреєва, І.Ю. (2010). Порівняльний аналіз фізіологічних показників стерляді, вирощеної у природних та штучних умовах. *Стан та*

перспективи використання водного басейну Поділля: промислові, екологічні, туристичні аспекти, (13–14 жовтня 2010 р.): матеріали міжнар. наук.-практ. конф., проведеної у рамках Фестивалю риби (с. 24–25). Кам'янець-Подільський: ПДАТУ.

47. Клебанов, Г.И., Бабенкова, И.В., Теселкин, Ю.О., Комаров, О.С., & Владимиров, Ю.А. (1988). Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов. *Лабораторное дело*, (5), 59–62.
48. Козаренко, Т.Д. (1975). *Ионообменная хроматография аминокислот*. Новосибирск: Наука.
49. Кокова, В.Е. (1982). *Непрерывное культивирование беспозвоночных*. Новосибирск : Наука.
50. Кононенко, Р.В. (2013). Використання установки замкнутого водопостачання при інтенсифікації виробництва риби продукції. *Рибогосподарська наука України*, (2), 56–65.
51. Кононцев, С.В., Гроховська, Ю.Р., Саблій, Л.А., & Козар, М.Ю. (2017). Аналіз відповідності складу забруднень оборотної води УЗВ потребам водних рослин у макроелементах. *Вісник Національного університету водного господарства та природокористування*, 3 (79). 68–75.
52. Кононцев, С.В., Саблій, С.А., & Гроховська, Ю.Р. (2011). *Екологічна біотехнологія очищення стічних вод та культивування кормових організмів*. Рівне: НУВГП.
53. Корчунов, А.А., Металлов, Г.Ф., Григорьев, В.А., & Ковалёва, А.В. (2012). Динамика биохимического состава тела и половых продуктов стерляди (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758) естественных популяций и выращенных в установках замкнутого водоснабжения. *Вестник*

Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство, (1), 136–143.

54. Краєвська, І.М. & Васіна, Л.М. (2017). Динаміка накопичення біомаси й каротиносинтезуюча активність *Rhodotorula glutinis* (Fresenius) F. C. Harrison (1982) за дії ультрафіолету. *Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи)*, 9 (2), 183–187.
55. Кражан, С.А., & Хижняк, М.І. *Природна кормова база ставів: Науково-виробниче видання*. Херсон : Олді-Плюс.
56. Кражан, С.А., Грициняк, І.І., Коба, С.А., & Григоренко Т.В. (2009). Стимулювання розвитку природної кормової бази вирощувальних ставів різними органічними добривами та використання її цьоголітками коропа. *Рибогосподарська наука України*, (3), 68–77.
57. Кружиліна, С.В., Мрук, А.І., Бузевич, І.Ю., & Діденко, О.В. (2010). Кормова база та шляхи відтворення природних популяцій форелі струмкової річках Прикарпаття. *Гидробиологический журнал*, 46 (3), 38–49.
58. Кутикова, Л.А. (1970). *Коловратки фауны СССР*. Ленинград: Наука.
59. Кушнірик, О.В. & Худий, О.І. (2015). Амінокислотний склад *Simosephalus vetulus* (Muller) за умов використання різних видів дріжджів як кормових субстратів. *Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія*, (3–4), 388–391.
60. Кушнірик, О.В., Худий, О.І., & Худа, Л.В. (2015). Гідролітична активність та поживна цінність *Simosephalus vetulus* (Muller) при культивуванні з різними кормовими субстратами. *Вісник Одеського національного університету. Серія: Біологія*, 20 (1), 115–120.
61. Лакуста, О.Н., & Руденко, С.С. (2017). CNP-стехиометрия трансграничных рек – Днестра, Прута и Сирета – на выходе из

- України. *Наукові доповіді НУБіП України. Сер. Біологія, біотехнологія, екологія*, 5 (69). Режим доступу: <http://journals.uran.ua/index.php/2223-1609/article/view/114868/109318>
62. Маєвська, О.М., Бойко, М.М., & Великий, М.М. (2004). Активність каталази за дії нітриту натрію. *Укр. біохім. журн.*, 76 (5), 140–143.
 63. Мануйлова, Е.Ф. (1964). *Ветвистоусые рачки (Cladocera) фауны СССР*. Москва, Ленинград: Наука.
 64. Марченко, М.М., Худий, О.І., Худа, Л.В., Чебан, Л.М., & Кушнірик, О.В. (2016). Спосіб культивування зоопланктону на скидній воді із рибоводної установки: пат. 104602. А01К 67/033. Україна: Бюлетень №3.
 65. Микаилов, Т.К., Бунятова, К.И., & Насиров, А.М. (1992). О находке яиц нематоды *Eustrongylides excisus* у осетровых Каспийского моря. *Паразитология*, 26 (5), 440–442.
 66. Микодина, П.К., Седова, М.А., Чмилевський, Д.А., Микулин, А.Е., Пьянова, С.В., & Полуэктова, О.Г. (2009). *Гистология для ихтиологов: Опыт и советы*. Москва: Изд-во ВНИРО.
 67. Министерство сельского хозяйства и продовольствия Российской Федерации (1999). *Методические указания по проведению гематологического обследования рыб: № 13-4-2-/1487, от 02 февраля 1999 г.* Москва.
 68. Минюк, Г.С., Дробецкая, И.В., Чубчикова, И.Н., & Терентьева, Н.В. (2008). Одноклеточные водоросли как возобновляемый биологический ресурс: обзор. *Морський екологічний журнал*, 7 (2), 5–23.
 69. Міністерство аграрної політики України. (2006). *СОУ-05.01.-37-385:2006. Вода рибогосподарських підприємств. Загальні вимоги та норми. Стандарт мінагрополітики України*. Київ.

70. Мовчан, Ю.В. (2006). Зауваження до складу іхтіофауни України (нечисленні, рідкісні, зниклі і нові види) та сучасні зміни в номенклатурі її таксонів. *Збірник праць Зоологічного музею*, 38, 34–43.
71. Мовчан, Ю.В. (2009). Риби України (таксономія, номенклатура, зауваження). *Збірник праць Зоологічного музею*, 40, 47–86.
72. Мовчан, Ю.В. (2011). *Риби України. (Визначник-довідник)*. Київ.
73. Молдован, О.М., & Худий, О.І. (2015). Характеристика показників зараженості риб Дністровського водосховища цестодами. *Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія*, 3–4 (64), 473–476.
74. Монченко, В.І. (1974). *Фауна України. Том 27. Вип. 3. Щелепнороті циклопоподібні, циклопи (Cyclopidae)*. Київ: Наукова думка.
75. Муравлева, Л.Е., Молотов-Лучанский, В.Б., Ключев, Д.А., Бакенова, Р.А., Култанов, Б.Ж., Танкибаева, Н.А., Койков, В.В., & Омарова, Г.А. (2010). Окислительная модификация белков: проблемы и перспективы. *Фундаментальные исследования*, (1), 74–78.
76. Мусієнко, М.М., Паршикова, Т.В., & Славний, П.С. (2001). *Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин*. Київ: Фітосоціоцентр.
77. Набережный, А.И., & Ирмашева, С.Г. (1983) Культивирование коловраток и мелких ветвистоусых ракообразных. *Herald Hydrobiology*.
Режим доступу:
<http://hydrobiologist.com/2009/12/11/cultivation-moina-brachionus>
78. Озінковська, С.П., Єрко, В.М., Коханова, Г.Д., Тарасова, О.М., & Полторацька, В.І. (1988). *Методика збору і обробки іхтіологічних і гідробіологічних матеріалів з метою визначення лімітів промислового вилучення риб з великих водосховищ і лиманів України*. Київ.

79. Особа, І.А. (2009). Особливості функціонування системи антиоксидантного захисту організму. *Рибогосподарська наука України*, (1), 133–139.
80. Остроумова, И. (2012). *Биологические основы кормления рыб*. Санкт-Петербург: ГосНИОРХ.
81. Паламарчук, М.М., & Закорчевна, Н.Б. (2001). *Водний фонд України: Довідковий посібник*. Київ: Ніка-Центр.
82. Полищук, В.В. & Гарасевич, И.Г. (1986). *Биогеографические аспекты изучения водоемов бассейна Дуная в пределах СССР*. Киев: Наукова думка.
83. Проданчук, Г.Н. & Балан, Г.М. (2007). Токсические метгемоглобинемии: механизмы формирования и пути оптимизации лечения. *Современные проблемы токсикологи*, 1, 37–45.
84. Прусиньска, М., & Чепуркина, М. (2011). Кормление натуральным кормом осетров на ювенональных стадиях развития. In R. Kolman & M. Prusińska (Ред.), *Problemy chowu młodocianych stadiów ryb jesiotrowatych* (с. 23–34). Olsztyn: Wyd. IRS.
85. Рахманова, Т.И., Матасова, Л.В., Семенихина, А.В., Сафонова, О.А., Макеева, А.В., & Попова, Т.Н. (2009). *Методы оценки оксидативного статуса*. Воронеж: Издательско-полиграфический центр Воронежского гос. ун-та.
86. Романенко, В.Д., Крот, Ю.Г., Сиренко, Л.А., & Соломатина, В.Д. (1999). *Биотехнология культивирования гидробионтов*. Киев: Институт гидробиологии НАН України.
87. Романь, А.М. (2015). *Представники роду Barbus у фауні України: поширення, мінливість, систематика : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: спец. 03.00.10 „Іхтіологія”*. Київ.

88. Саркисов, Д.С. & и Перов, Ю.Л. (1996). *Микроскопическая техника: Руководство*. Москва: Медицина.
89. Северин, Е.С. (Ред.). (2003). *Биохимия*. Москв: ГЭОТАР-МЕД.
90. Симон, М.Ю. (2015). Використання кормових дріжджів у годівлі осетрових (Acipenseridae) видів риб (огляд). *Рибогосподарська наука України*, (4), 100–126.
91. Сиренко, Л.А., Евтушенко, Н.Ю., Комаровский, Ф.Я., Лаврик, В.И., Шнаревич, И.Д., Тимченко, В. М., ... Тимченко, И.И. (1992). *Гидробиологический режим Днестра и его водоемов*. (Л.П. Брагинский, Отв. ред). Киев: Наукова думка.
92. Скільський, І.В., Хлус, Л.М., Череватов, В.Ф., Смірнов, Н.А., Чередарик, М.І., Худий, О.І., Мелешук, Л.І. (2007). *Червона книга Буковини. Тваринний світ. Т.2, ч. 1*. Чернівці: ДрукАрт.
93. Склярів, В.Я. (2008). *Корма и кормление рыб в аквакультуре*. Москва: Изд-во ВНИРО.
94. Склярів, О.Я., Сольський, Я., Великий, М.М., Бондарчук, Т.І., & Дума Д. (2008). *Біохімія ензимів. Ензимодіагностика. Ензимопатологія. Ензимотерапія*. Київ: Видавництво «Медицина».
95. Сластененко, Ю.П. (1929). Матеріяли до іхтіофавни р. Дністера та його головніших допливів (в межах Кам'янецької окр.). В *Записки Кам'янець-Подільської н.-досл. кафедри*. (с. 45–69). Кам'янець-Подільський.
96. Солдатов, А.А. (2002). Особенности структуры, полиморфизм и устойчивость к окислению гемоглобинов рыб. *Журн. эвол. биохим. и физиол.*, 38 (4), 305–308.
97. Старобогатов, Я.И., & Кутикова, Л.А. (1977). *Определитель пресноводных беспозвоночных европейской части СССР (планктон и бентос)*. Ленинград: Гидрометеоиздат.

98. Старовойтова, С.О., Скороцька, О.І., Пенчук, Ю.М., & Пирог, Т.П. (2012). *Технологія пробіотиків*. Київ: НУХТ.
99. Стоник, В. А. (2009). Морские природные соединения. Путь к новым лекарственным препаратам. *Acta Naturae*, (2), 16–27.
100. ТУ 46.15.520. ДОН-1R. Засіб для профілактики та лікування аеромонозу (краснухи), зяберного некрозу і підвищення рибопродуктивності водойм. (2000).
101. Тушницька, Н.Й. (2008). Вплив препарату «Вітан» на активність імунної системи у коропа, хворого на краснуху. *Наук.-техн. бюл. Інституту біології тварин УААН, ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок*, 9 (1, 2), 271–273.
102. Тушницька, Н.Й., & Янович, В. Г. (2007). Вплив препаратів бровасептол і вітан на активність антиоксидантної системи в організмі коропа, хворого на краснуху, при різних способах їх введення. *Біологія тварин*, 9 (1, 2), 195–198.
103. Ушакова, Н.В. & Кузьмина В.В. (2011). Протеиназы потенциальных объектов питания рыб. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*, 47 (2), 142–150.
104. ФАО. (2016). *Состояние мирового рыболовства и аквакультуры 2016. Вклад в обеспечение продовольственной безопасности и питания*. Рим.
105. Халафян, А.А. (2007). *STATISTICA 6. Статистический анализ данных*. Москва: «Бином-Пресс».
106. Ханайченко А.Н., Поспелова Н.В., Аганесова Л.О., & Рауэн Т.В. (2014). Каротиноидный состав каланоидных копепод *Calanipeda aquaedulcis* и *Artodiaptomus salinus* при питании *Dunaliella salina*. *Морський екологічний журнал*, 13 (1), 82–87.

107. Худа Л.В., Марченко, М.М., & Худий, О.І. (2014). Жирнокислотний склад м'язів стерляді, вирощеної в умовах рибоводної рециркуляційної системи. *Ukrainian Biochemical Journal*, 86 (5) (Supplement 2), 263.
108. Худий О.І. (2005). Особливості зміни екстер'єру плітки (*Rutilus rutilus* L.) внаслідок зарегулювання передгірської ділянки течії Дністра. *Наукові записки Тернопільського національного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. Спеціальний випуск "Гідроекологія"*, 26 (3), 463–465.
109. Худий О.І. (2014). Реєстр знахідок осетрових у басейні Дністра. *Сучасні проблеми теоретичної та практичної іхтіології: матеріали VII Міжнародної іхтіологічної науково-практичної конференції (Мелітополь-Бердянськ, 10–13 вересня 2014 р.)* (с.256–266). Херсон: Видавець Гринь Д.С.
110. Худий О.І. (2018). Поширення «червонокнижних» видів риб в басейнах Дністра, Пруту та Сірету в межах західного регіону України. *Матеріали до 4-го видання Червоної книги України. Тваринний світ. Серія: «Conservation Biology in Ukraine». Вип. 7, Т. 2.* (с. 339–346). Київ.
111. Худий О.І., & Худа Л.В. (2009). Гідрохімічна характеристика передгірської ділянки течії ріки Прут. *Збірка матеріалів II Міжнародної конференції «Сучасні проблеми біології, екології та хімії» (Запоріжжя, 01–03 жовтня 2009р.)* (с. 108–109). Запоріжжя.
112. Худий, О.І., & Худа, Л.В. (2016). Созологічна характеристика іхтіофауни басейнів Дністра, Пруту та Сірету в межах Карпатського регіону України. *Сучасні проблеми теоретичної і практичної іхтіології: матеріали IX Міжнародної іхтіологічної науково-*

практичної конференції, (Одеса, 14-16 вересня 2016 р.) (с. 276–279).
Одеса: ТЕС.

113. Худий, О.І., Гарматюк, О.М., Рябко, Г.Д., & Кудер В.О. (2011). Попередні дослідження показників зараженості риб Дністровського водосховища паразитами. *Охорона довкілля та проблеми збалансованого природокористування: матеріали міжнародної конференції (м. Кам'янець-Подільський, 10-11 травня, 2011 р.)* (с. 109–111). Кам'янець-Подільський: Мошинський.
114. Худий, О.І., Корчак, Л.М., & Худа. Л.В. (2010). Характеристика гідроекологічних умов та структури іхтіокомплексу Дністровського водосховища в контексті відновлення промислового освоєння рибних запасів. *Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи)*, 2 (1), 70–72.
115. Худий, О.І., Худа, Л.В., Голубєв, М.І., Бабин, В.О., & Джуравець, Ю.Ю. (2016). Лабораторне виготовлення гранульованих кормів-основ для вивчення ефекту біологічно активних добавок при вирощуванні осетрових риб. *Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи)*, 8 (1), 15–19.
116. Худый, А.И. & Кушнырьк, О.В. (2011). Сравнительная характеристика сезонной динамики развития сообществ зоопланктона в системе рыбохозяйственный пруд-река. *Экологический мониторинг и биоразнообразие*, 6 (1), 52–55.
117. Худый, А.И. (2007). Морфо-экологические адаптации леща (*Abramis brama* L.) в условиях зарегулирования предгорного участка Днестра. *Buletin stiintific. Etnografie, stiintele naturii si muzeologie. Serie noua. Stiintele naturii*, 6 (19), 104–109.

118. Худый, А.И. (2018). Адаптивные изменения в экстерьере вырезуба в связи с зарегулированием предгорного участка Днестра. *Вопросы рыбного хозяйства Беларуси*, 34, 268–275.
119. Худый, А.И., Крысько, И.С., & Худа, Л.В. (2017). Видовая структура и количественный состав уловов рыбаков-любителей на Днестровском водохранилище. *Интегрированное управление бассейном трансграничного Днестра: платформа для сотрудничества и современные вызовы: Материалы международной конференции, (Тирасполь, 26-27 октября 2017 г.)* (с. 403–409). Тирасполь: Есо-TIRAS.
120. Худый, А.И., Правицкая, Н.Д., & Худая, Л.В. (2010). Характеристика гидрохимического режима р. Серет в акватории г. Чертков. *Бассейн реки Днестр: экологические проблемы и управление трансграничными природными ресурсами. Материалы Международной научно-практической конференции. Тирасполь, 15–16 октября 2010 г.* (с. 278–281). Тирасполь: О.О. «Экоспектр».
121. Цимбалюк, В.В. (2011). Перспективи використання базальтового туфу у медицині. *Наука і студія*, 14, 16–18.
122. Цимбалюк, В.В. (2014). Дослідження різних типів модифікації і каталітичні властивості базальтового туфу та вивчення його можливостей щодо очищення стічних вод. *Фізика, хімія та технологія поверхні*, (3), 335–348.
123. Чебанов, М.С. & Галич, Е.В. (2013). *Руководство по искусственному воспроизводству осетровых рыб*. Анкара: ФАО.
124. Чепуркина, М.А., & Голубкова, Т.А. (2006). Оптимизация методов кормления осетровых рыб в период раннего онтогенеза. *Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития: Материалы*

- докладов *IV Международной научно-практической конференции (13-15 марта 2006, г. Астрахань)* (с. 276–278). Москва: Изд-во ВНИРО.
125. Чередарик, М.И., & Худый, А.И. (2008). Альгофлора горных рек восточной части Карпатского региона Украины. *Современные проблемы альгологии: Материалы международной научной конференции и VIII Школы по морской биологии (9-13 июня 2008 г., Ростов-на-Дону)*. (с. 384–386). Ростов-на-Дону: Изд-во ЮНЦ РАН.
 126. Чередарик, М.И., & Худый, А.И. (2012). Влияние паводковых стоков на продукционно-деструкционные процессы в горных гидроекосимтемах *Экологический мониторинг и биоразнообразие: материалы IV международной научно-практической конференции (Ишим, 18-19 апреля 2012 г.)* (с. 229–233). Ишим: Изд-во ИГПИ им. Ершова.
 127. Чередарик, М.І., & Худий, О.І. (2011). Оцінка стану гірських екосистем східних схилів Карпат. *Всеукраїнська науково-практична конференція «Регіональні та транскордонні проблеми екологічної безпеки. Горбуновські читання». Тези доповідей. (м. Чернівці, 5-7 травня 2011 р.)* (с. 178–179). Чернівці: Прут, 2011.
 128. Чертопруд, М.В., & Чертопруд, Е.С. (2003). *Краткий определитель беспозвоночных пресных вод центра Европейской России*. Москва: Макс Пресс.
 129. Чечета, О.В., Сафонова, Е.В., & Сливкин А.И. (2008). Методика определения каротиноидов методом хроматографии в тонком слое сорбента. *Сорбционные и хроматографические процессы*, 8 (2), 320–326.
 130. Чипинов, В.Г., Красильникова, А.А., & Коваленко, М.В. (2012). Сравнительная оценка применения сухих полнорационных

- комбикормов европейского производства при выращивании осетровых рыб. *Вестник АГТУ. Серия: Рыбное хозяйство*, (2), 99–104.
131. Шевцова, Л.В., Алиев, К.А., Кузько, О.А., Жданова, Г.А., Григорович, И.А., Цаплина, Е.Н. ... Зыкова, Е.А. (1998). *Экологическое состояние реки Днестр*. Киев.
 132. Шевчук, Ю.Ф. (2011). *Оцінка трансформації якості питної води в системі джерело-споживач (на прикладі міста Чернівці): автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. географ. наук : спец. 11.00.07 «Гідрологія суші, водні ресурси, гідрохімія»*. Чернівці.
 133. Шнаревич, И.Д. (1968). *Биологические основы освоения и воспроизводства рыбных ресурсов рек Украинских Карпат : дис. ... доктора биол. наук*. Черновцы.
 134. Щербуха, А.Я. (2004). Іхтіофауна України у ретроспективі та сучасні проблеми збереження її різноманітності. *Вестник зоологи*, 38 (3), 3–18.
 135. Ярошенко, М.Ф. (1957). *Гидрофауна Днестра*. Москва: Изд-во АН СССР.
 136. Abowei, J. F. N., & Ekubo, a T. (2011). A Review of Conventional and Unconventional Feeds in Fish Nutrition. *British Journal of Pharmacology and Toxicology*, 2(4), 179–191.
 137. Adloo, M. N., Matinfar, A., & Sourinezhad, I. (2012). Effects of Feeding Enriched *Artemia Franciscana* with HUFA, Vitamin C and E on Growth Performance, Survival and Stress Resistance of Yellowfin Seabream Larvae. *Journal of Aquaculture Research and Development*, 3(8).
<http://doi.org/10.4172/2155-9546.1000157>
 138. Akbary, P., Hosseini, S. A., & Imanpoor, M. R. (2011). Enrichment of *Artemia nauplii* with essential fatty acids and vitamin C: effect on rainbow

- trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae performance. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 10(4), 557–569.
139. Aksu, Z., & Eren, A. T. (2005). Carotenoids production by the yeast *Rhodotorula mucilaginosa*: Use of agricultural wastes as a carbon source. *Process Biochemistry*, 40 (9), 2985–2991.
<http://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.01.011>
 140. Animal Feeding Stuffs: Determination of Crude Ash: ISO 5984:2002(E) – ISO 5984:2002(E). Geneve: International Organization for Standardization.
 141. Aragao, C., Conceicao, L.E.C., Dinis, M.T., Fyhn, H.J. (2004). Amino acid pools of rotifers and *Artemia* under different conditions: nutritional implications for fish larvae. *Aquaculture*. 234, 429-445.
 142. Aramli, M. S., Kalbassi, M. R., & Nazari, R. M. (2013). Blood and seminal plasma enzyme values of Persian sturgeon, *Acipenser persicus* (Chordata: Osteichthyes). *Italian Journal of Zoology*, 80(4), 490–493.
<http://doi.org/10.1080/11250003.2013.859309>
 143. ASEAN. (2013). *Guidelines for the use of chemicals in aquaculture and measures to eliminate the use of harmful chemicals*. Jakarta: The ASEAN Secretariat.
 144. Atyabi, N., Yasini, S. P., Jalali, S. M., & Shaygan, H. (2012). Antioxidant effect of different vitamins on methemoglobin production: An in vitro study. *Veterinary Research Forum : An International Quarterly Journal*, 3 (2), 97–101.
 145. Avci, A., Kaçmaz, M., & Durak, İ. (2005). Peroxidation in muscle and liver tissues from fish in a contaminated river due to a petroleum refinery industry. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60 (1), 101–105.
<http://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2003.10.003>
 146. Balachandar, S., & Rajaram, R. (2018). Influence of different diets on the growth, survival, fecundity and proximate composition of brine shrimp

- Artemia franciscana* (Kellog, 1906). *Aquaculture Research*, <https://doi.org/10.1111/are.13882>
147. Barcelos, M. C. S., Lupki, F. B., Campolina, G. A., Nelson, D. L., & Molina, G. (2018). The colors of biotechnology: General overview and developments of white, green and blue areas. *FEMS Microbiology Letters*, 365(21), 1–11. <http://doi.org/10.1093/femsle/fny239>
 148. Barulin, N. (2014). Diagnostyka stanu fizjologicznego selektów i tarlaków sterleta (*Acipenser ruthenus* L.) w systemach recyrkulacyjnych. In *Aktualny stan i ochrona naturalnych populacji ryb jesiotrowatych Acipenseridae* (pp. 197–202). Olsztyn: IRS.
 149. Bengtson, D.A., Leger, P., Sorgeloos, P. (1991). Use of *Artemia* as a food source for aquaculture. In: *Artemia Biology*. Boca Raton: CRC Press, 1991, 255-280.
 150. Bhosale, P. (2004). Environmental and cultural stimulants in the production of carotenoids from microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 63(4), 351–361. <http://doi.org/10.1007/s00253-003-1441-1>
 151. Bhosale, P. B., & Gadre, R. V. (2001). Production of β -carotene by a mutant of *Rhodotorula glutinis*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 55(4), 423–427. <http://doi.org/10.1007/s002530000570>
 152. Blancheton, J. P., Attramadal, K. J. K., Michaud, L., D'Orbcastel, E. R., & Vadstein, O. (2013). Insight into bacterial population in aquaculture systems and its implication. *Aquacultural Engineering*, 53, 30–39. <http://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2012.11.009>
 153. Bogut, I., Adamek, Z., Puškadija, Z., & Galović, D. (2010). Nutritional value of planktonic Cladoceran *Daphnia magna* for common carp (*Cyprinus carpio*) fry feeding. *Croatian Journal of Fisheries : Ribarstvo*, 68(1), 1–10. Retrieved from <https://hrcak.srce.hr/50792>

154. Brown, M. R., & Blackburn, S. I. (2013). Live microalgae as feeds in aquaculture hatcheries. In *Advances in Aquaculture Hatchery Technology* (p. 117–158e). Woodhead Publishing Limited. <http://doi.org/10.1533/9780857097460.1.117>
155. Caraway, W. T. (1959). A stable starch substrate for the determination of amylase in serum and other body fluids. *Technical Bulletin of the Registry of Medical Technologists*, 29 (6), 91–3.
156. Carrera-García, E., Rochard, E., & Acolas, M.-L. (2016). European sturgeon (*Acipenser sturio* L.) young of the year performance in different rearing environments –study within a stocking program. *Environmental Biology of Fishes*, 99 (11), 887–901. <http://doi.org/10.1007/s10641-016-0531-8>
157. Chakraborty, R.D., Chakraborty, K., Radhakrishnan, E.V. (2007). Variation in fatty acid composition of *Artemia salina* nauplii enriched with microalgae and baker's yeast for use in larviculture. *J. Agric. Food Chem.* 55, 4043-4051.
158. Chakri, K., Berrak, H., Samraoui, B. (2014). Effect of food concentration on the development, growth, reproduction and total life span of *Simocephalus expinosus* Koch (Cladocera: Daphniidae). *Annals of Biological Research*. 5(1), 55-58.
159. Cheban, L., Grynko, O., & Dorosh, I. (2018). Co-cultivation of *Daphnia magna* (Straus) and *Desmodesmus armatus* (chod.) Hegew. in recirculating aquaculture system wastewater. *Archives of Polish Fisheries*, 26(1), 57–64. <http://doi.org/10.2478/aopf-2018-0007>
160. Cheban, L., Malischuk, I., & Marchenko, M. (2015). Cultivating *Desmodesmus armatus* (Chod.) Hegew. in recirculating aquaculture systems (RAS) waste water. *Archives of Polish Fisheries*, 23(3), 155–162. <http://doi.org/10.1515/aopf-2015-0018>

161. Cheban, L., Malishchuk, I., & Marchenko, M. (2018). Reaction of Cells *Desmodesmus armatus* (Chod.) Hegew. on the Induction of Carotynogenesis. *International Letters of Natural Sciences*, 72, 21–27. <http://doi.org/10.18052/www.scipress.com/ILNS.72.21>
162. Chithambaran, S., Harbi, M., Broom, M., Khobrani, K., Ahmad, O., Fattani, H., ... Ayaril, N. (2017). Green water technology for the production of pacific white shrimp, *Penaeus vannamei* (Boone, 1931). *Indian Journal of Fisheries*, 64 (3). <http://doi.org/10.21077/ijf.2017.64.3.63656-07>
163. CITES. Appendices I, II and III. Valid from 4 October 2017. Retrieved June 30, 2018, from <https://cites.org/eng/app/appendices.php#foot>
164. Conklin, D. E., & Provasoli, L. (1977). Nutritional requirements of the water flea *Moina macrocopa*. *The Biological Bulletin*, 152(3), 337–350. <http://doi.org/10.2307/1540422>
165. Convention on the Conservation of European Wildlife and Natural Habitats (1979). *European Treaty Series № 104*. Bern. Retrieved from <http://www.coe.int/en/web/conventions/full-list/-/conventions/treaty/104>
166. Cooper, C. E., Torres, J., Sharpe, M. A., Wilson, M. T., & Svistunenko, D. A. (1998). Peroxynitrite Reacts with Methemoglobin to Generate Globin-Bound Free Radical Species. In A. G. Hudetz & D. F. Bruley (Eds.), *Oxygen Transport to Tissue XX* (pp. 195–202). New York: Springer US. http://doi.org/10.1007/978-1-4615-4863-8_24
167. Craig, S.R. (2005). The organic aquaculture movement: a role for NuPro® as an alternative protein source. In: *Nutritional biotechnology in the feed and food industries. Proceedings of Alltech's 21st Annual Symposium*. Stamford, Alltech UK, 285–294.
168. Crespi, V., & Lovatelli, A. (Eds.). (2011). *Aquaculture in desert and arid lands: development constraints and opportunities: FAO Technical*

- Workshop, 6-9 July 2010, Hermosillo, Mexico*. FAO Fisheries and Aquaculture Proceedings No. 20. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. Retrieved from <http://www.fao.org/docrep/015/ba0114e/ba0114e00.htm>
169. Czczuga, B. (1995). Carotenoid in young forms of some sturgeonid fish (Acipensiridae). *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, XXV(1), 71–78.
 170. Czczuga, B., Kolman, R., Czczuga-Semeniuk, E., Szczepkowski, M., Semeniuk, A., Kosielski, P., & Sidorov, N. (2006). Carotenoid composition in the muscles of siberian sturgeon (*Acipenser baerii* Br.) and sterlet (*Acipenser ruthenus* L.) juveniles fed feed supplemented with Vitaton. *Archives of Polish Fisheries*, 14(2), 213–224. Retrieved from http://www.infish.com.pl/wydawnictwo/Archives/Fasc/work_pdf/Vol14Fasc2/Vol14-Fasc2 - w05.pdf
 171. Dabrowski, K. (1991). Administration of gulonolactone does not evoke ascorbic acid synthesis in teleost fish. *Fish Physiology and Biochemistry*, 9(3), 215–221. <http://doi.org/10.1007/BF02265142>
 172. Dabrowski, K., Glogowski, J. (1977). Studies on the proteolytic enzymes of invertebrates constituting fish food. *Hydrobiologia*. 52, 171-174.
 173. Das, P., Mandal, S. C., Bhagabati, S. K., Akhtar, M. S., & Singh, S. K. (2012). Important Live Food Organisms and Their Role in Aquaculture. In M. Sukham (Ed.), *Frontiers in Aquaculture* (pp. 69–86). New Delhi: Narendra Publishing House.
 174. Day, J., Hughes, A., Greenhill, A., & Stanley, M. S. (2016). *Blue biotechnology*. London: Commonwealth Secretariat.
 175. de Siqueira-Silva, D. H., Saito, T., dos Santos-Silva, A. P., da Silva Costa, R., Psenicka, M., & Yasui, G. S. (2018). Biotechnology applied to fish reproduction: tools for conservation. *Fish Physiology and Biochemistry*, 44(6), 1469–1485. <http://doi.org/10.1007/s10695-018-0506-0>

176. Decker, E. A., Crum, A. D., Mims, S. D., & Tidwell, J. H. (1991). Processing yields and composition of paddlefish (*Polyodon spathula*), a potential aquaculture species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39(4), 686–688. <http://doi.org/10.1021/jf00004a012>
177. Dey, A., Ghosh, K., & Hazra, N. (2015). An Overview on Bioencapsulation of Live Food Organisms with Probiotics for Better Growth and Survival of Freshwater Fish Juveniles. *International Journal of Research in Fisheries and Aquaculture*, 5 (2), 74–83. Retrieved from http://www.urpjournals.com/tocjnls/35_15v5i2_4.pdf
178. Di Marco, P., Priori, A., Finoia, M. G., Petochi, T., Longobardi, A., Donadelli, V., & Marino, G. (2011). Assessment of blood chemistry reference values for cultured sturgeon hybrids (*Acipenser naccarii* female × *Acipenser baerii* male). *Journal of Applied Ichthyology*, 27 (2), 584–590. <http://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2011.01713.x>
179. Dong, H. T., Techatanakitarnan, C., Jindakittikul, P., Thaiprayoon, A., Taengphu, S., Charoensapsri, W., ... Senapin, S. (2017). *Aeromonas jandaei* and *Aeromonas veronii* caused disease and mortality in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Journal of Fish Diseases*, 40 (10), 1395–1403. <https://doi.org/10.1111/jfd.12617>
180. Duca, G. et al. (Eds.). (2015). Cartea Roșie a Republicii Moldova. (3th ed.). Chișinău: Î.E.P. Știința.
181. El-Banna, A. A., El-Razek, A. M. A., El-Mahdy, A. R., El-Banna, A. A., El-Razek, A. M. A., & El-Mahdy, A. R. (2012). Some factors affecting the production of carotenoids by *Rhodotorula glutinis* var. *glutinis*. *Food and Nutrition Sciences*, 3 (1), 64–71. <http://doi.org/10.4236/fns.2012.31011>
182. Enshaeieh, M., Abdoli, A., Nahvi, I., & Madani, M. (2012). Bioconversion of different carbon sources into microbial oil and biodiesel using

- oleaginous yeasts. *Journal of Biology and Today's World*, 1(2), 42–47.
<http://doi.org/10.15412/J.JBTW>
183. Estvez, A., & Kanazawa, A. (1996). Fatty Acid Composition of Neural Tissues of Normally Pigmented and Unpigmented Juveniles of Japanese Flounder Using Rotifer and Artemia Enriched in n-3 HUFA. *Fisheries Science*, 62 (1), 88–93. <http://doi.org/10.2331/fishsci.62.88>
 184. Evjemo, J.O., Danielsen, T.L., Olsen, Y. (2001). Losses of lipid, protein and n-3 fatty acids in enriched *Artemia franciscana* starved at different temperatures. *Aquaculture*. 193 (1–2), 65–80.
[http://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00470-1](http://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00470-1)
 185. Falahatkar, B., Soltani, M., Abtahi, B., Kalbassi, M. R., & Pourkazemi, M. (2006). Effects of dietary vitamin C supplementation on performance, tissue chemical composition and alkaline phosphatase activity in great sturgeon (*Huso huso*). *Journal of Applied Ichthyology*, 22 (s1), 283–286.
<http://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2007.00969.x>
 186. Farhoudi, A., Abedian Ke, A. M., Nazari, R. M., & Makhdoomi, C. H. (2011). Study of Body Composition, Lipid and Fatty Acid Profile During Larval Development in Caspian Sea Carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 6 (4), 417–428.
<http://doi.org/10.3923/jfas.2011.417.428>
 187. Fegan, D. (2007). Functional foods for aquaculture: benefits of NuPro® and dietary nucleotides in aquaculture feeds. Alltech Inc., Bangkok, Thailand, 419–432.
 188. Feng, G., Zhuang, P., Zhang, L., Kynard, B., Shi, X., Duan, M., ... Huang, X. (2011). Effect of anaesthetics MS-222 and clove oil on blood biochemical parameters of juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). *Journal of Applied Ichthyology*, 27 (2), 595–599.
<http://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2011.01711.x>

189. Ferrao, M., Garg, S. (2011). Studies on effect of media components on growth and α -carotene production by *Rhodotorula graminis* RC04. *Journal of Cell and Tissue Research*, 11 (1), 2551-2556.
190. Figueiredo, J., Van Woesik, R., Lin, J., Narciso, L. (2009). *Artemia franciscana* enrichment model. How to keep them small, rich and alive? *Aquaculture*. 294, 212-220.
191. Filipiak, J., Czerniejewski, P., Sadowski, J., & Trzebiatowski, R. (1999). Comparison of the effects of cage-rearing of sterlet (*Acipenser ruthenus*) and russian \times siberian sturgeon (*Acipenser gueldenstadetdti* \times *A. baeri*) hybrid fry in cooling water. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*, 2 (2). Retrieved from <http://www.ejpau.media.pl/volume2/issue2/fisheries/art-03.html>
192. Folch, J., Lees, M., & Sloane Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry*, 226 (1), 497–509.
193. Fopp-Bayat, D., Kuzniar, P., Kolman, R., Liszewski, T., & Kucinski, M. (2015). Genetic analysis of six sterlet (*Acipenser ruthenus*) populations - recommendations for the plan of restitution in the Dniester River. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 14 (3), 634–645.
194. Fracalossi, D. M., Allen, M. E., Yuyama, L. K., & Oftedal, O. T. (2001). Ascorbic acid biosynthesis in Amazonian fishes. *Aquaculture*, 192 (2–4), 321–332. [http://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00455-5](http://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00455-5)
195. Frengova, G. I., & Beshkova, D. M. (2009). Carotenoids from *Rhodotorula* and *Phaffia*: yeasts of biotechnological importance. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 36 (2), 163–180. <http://doi.org/10.1007/s10295-008-0492-9>
196. Frengova, G., Simova, E., & Beshkova, D. (2004). Use of Whey Ultrafiltrate as a Substrate for Production of Carotenoids by the Yeast

- Rhodotorula rubra*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 112 (3), 133–142. <http://doi.org/10.1385/ABAB:112:3:133>
197. Freyhof, J., & Brooks, E. (2011). *European Red List of Freshwater Fishes*. Luxembourg: Publications Office of the European Union. <http://doi.org/10.2779/85903>
198. Froehlich, H. E., Gentry, R. R., & Halpern, B. S. (2017). Conservation aquaculture: Shifting the narrative and paradigm of aquaculture's role in resource management. *Biological Conservation*, 215, 162–168. <http://doi.org/10.1016/j.biocon.2017.09.012>
199. Garcia-Ortega, A., Verreth, J.A.J., Coutteau, P., Segner, H., Huisman, E.A., Sorgeloos, P. (1998). Biochemical and enzymatic characterization of decapsulated cysts and nauplii of the brine shrimp *Artemia* at different developmental stages. *Aquaculture*. 161, 501–514.
200. Gawlicka, A., Parent, B., Horn, M.H., Ross, N., Opstad, I., Torrissen, O.J. (2000). Activity of digestive enzymes in yolk-sac larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*): indication of readiness for first feeding. *Aquaculture*. 184, 303–314.
201. Gessner, J., Freyhof, J. & Kottelat, M. 2010. *Acipenser ruthenus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2010: e.T227A13039007. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2010-1.RLTS.T227A13039007.en>
202. Ghomi, M., Nikoo, M., & Sohrabnezhad, M. (2013). Effect of alive weight on body composition and fatty acid content of farmed beluga sturgeon (*Huso huso*). *International Aquatic Research*, 5 (1), 6. <http://doi.org/10.1186/2008-6970-5-6>
203. Giani, A. (1991). Implications of phytoplankton chemical composition for zooplankton production: experimental evidence. *Oecologia*, 87 (3), 409–416. <http://doi.org/10.1007/BF00634599>

204. Giri, S. S., Yun, S., Jun, J. W., Kim, H. J., Kim, S. G., Kang, J. W., ... Park, S. C. (2018). Therapeutic Effect of Intestinal Autochthonous *Lactobacillus reuteri* P16 Against Waterborne Lead Toxicity in *Cyprinus carpio*. *Frontiers in Immunology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01824>
205. Gomulka, P., Dagowski, J., Wlasow, T., Szczepkowski, M., Czerniak, E., Ziomek, E., ... Szkudlarek, M. (2015). Haematological and biochemical blood profile in Russian Sturgeon following Propofol and Eugenol anaesthesia. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 15 (1), 13–17. http://doi.org/10.4194/1303-2712-v15_1_02
206. Gomulka, P., Wlasow, T., Velišek, J., Svobodová, Z., & Chmielinska, E. (2008). Effects of Eugenol and MS-222 Anaesthesia on Siberian Sturgeon *Acipenser baerii* Brandt. *Acta Veterinaria Brno*, 77 (3), 447–453. <http://doi.org/10.2754/avb200877030447>
207. Green, J. (1957). Carotenoids in *Daphnia*. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 147 (928), 392–401. <http://doi.org/10.1098/rspb.1957.0058>
208. Hafezieh, M., Kamarudin, M. S., Saad, C. R. Bin, Sattar, M. K. A., Agh, N., & Hosseinpour, H. (2009). Effect of Enriched *Artemia urmiana* on Growth, Survival and Composition of Larval Persian Sturgeon. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 9 (2), 201–207. <http://doi.org/10.4194/trjfas.2009.0212>
209. Haghparast, S., Kashiri, H., Alipour, G., & Shabanpour, B. (2011). Evaluation of Green Tea (*Camellia sinenses*) Extract and Onion (*Allium cepa* L.) Juice Effects on Lipid Degradation and Sensory Acceptance of Persian Sturgeon (*Acipenser persicus*) Fillets: A Comparative Study. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 13 (6), 855–868.

210. Hai, N. V. (2015). The use of probiotics in aquaculture. *Journal of Applied Microbiology*, 119 (4), 917-935. <http://doi.org/10.1111/jam.12886>
211. Hamre, K. (2016). Nutrient profiles of rotifers (*Brachionus* sp.) and rotifer diets from four different marine fish hatcheries. *Aquaculture*, 450, 136–142. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.07.016>
212. Hanel, L., Lusk, S., & Andreska, J. (2013). Huchen in the Czech Republic: A review. *Archives of Polish Fisheries*, 21 (3), 143–154. <http://doi.org/10.2478/aopf-2013-0011>
213. Harris, R., Lenz, J., Huntley, M., Wiebe, P., & Skjoldal, H. R. (Eds.). (2000). *ICES Zooplankton Methodology Manual*. Elsevier. <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-327645-2.X5000-2>
214. Hemaiswarya, S., Raja, R., Ravi Kumar, R., Ganesan, V., & Anbazhagan, C. (2011). Microalgae: a sustainable feed source for aquaculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27 (8), 1737–1746. <http://doi.org/10.1007/s11274-010-0632-z>
215. Hernández-Almanza, A., Cesar Montanez, J., Aguilar-González, M. A., Martínez-Ávila, C., Rodríguez-Herrera, R., & Aguilar, C. N. (2014). *Rhodotorula glutinis* as source of pigments and metabolites for food industry. *Food Bioscience*, 5, 64–72. <http://doi.org/10.1016/j.fbio.2013.11.007>
216. Hernández-Jodra, M., & Gancedo, C. (1979). Characterization of an intracellular inhibitor of the carboxypeptidase R from *Rhodotorula glutinis*. *Hoppe-Seyler's Zeitschrift Fur Physiologische Chemie*, 360 (7), 913–7.
217. Herring, P. J. (1968). The carotenoid pigments of *Daphnia magna* Straus. I. The pigments of animals fed. *Chlorella pyrenoidosa* and pure carotenoids. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 24 (1), 187–203.
218. Hoehne-Reitan, K., Kjørsvik, E., & Reitan, K. I. (2003). Lipolytic activities in developing turbot larvae as influenced by diet. *Aquaculture*

International, 11(5), 477–489.

<https://doi.org/10.1023/B:AQUI.00000004192.36467.0d>

219. Horn, A. F., Nielsen, N. S., & Jacobsen, C. (2009). Additions of caffeic acid, ascorbyl palmitate or γ -tocopherol to fish oil-enriched energy bars affect lipid oxidation differently. *Food Chemistry*, 112 (2), 412–420. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.05.094>
220. Hu, Q., Sommerfeld, M., Jarvis, E., Ghirardi, M., Posewitz, M., Seibert, M., & Darzins, A. (2008). Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. *The Plant Journal*, 54 (4), 621–639. <http://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03492.x>
221. Huertas, M., Gisbert, E., Rodríguez, A., Cardona, L., Williot, P., & Castelló-Orvay, F. (2002). Acute exposure of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*, Brandt) yearlings to nitrite: Median-lethal concentration (LC50) determination, haematological changes and nitrite accumulation in selected tissues. *Aquatic Toxicology*, 57 (4), 257–266. [http://doi.org/10.1016/S0166-445X\(01\)00207-7](http://doi.org/10.1016/S0166-445X(01)00207-7)
222. Ikram-ul-Haq, & Mukhtar, H. (2007). Protease biosynthesis from *Lactobacillus* species: fermentation parameters and kinetics. *Journal of Food Processing and Preservation*, 31(1), 102–115. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2007.00111.x>
223. Immanuel, G., Citarasu, T., Sivaram, V., Shankar, V.S., Palavesam A. (2007). Bioencapsulation strategy and highly unsaturated fatty acids (HUFA) enrichment in *Artemia franciscana* nauplii by using marine trash fish *Odonus niger* liver oil. *African Journal of Biotechnology*. 6 (17), 2043–2053.
224. International Union for Conservation of Nature and Natural Resources. (2000). *The IUCN red list of threatened species*. IUCN Global Species

- Programme Red List Unit. Retrieved from http://www.iucnredlist.org/static/categories_criteria_3_1
225. Isely, J. J., & Tomasso, J. R. (1998). Acute Toxicity of Ammonia and Nitrite to Shortnose Sturgeon Fingerlings. *The Progressive Fish-Culturist*, 60 (4), 315–318. [http://doi.org/10.1577/1548-8640\(1998\)060<0315:ATOAAAN>2.0.CO;2](http://doi.org/10.1577/1548-8640(1998)060<0315:ATOAAAN>2.0.CO;2)
 226. Kaktcham, P. M., Temgoua, J.-B., Ngoufack Zambou, F., Diaz-Ruiz, G., Wachter, C., & Pérez-Chabela, M. de L. (2017). Quantitative analyses of the bacterial microbiota of rearing environment, tilapia and common carp cultured in earthen ponds and inhibitory activity of its lactic acid bacteria on fish spoilage and pathogenic bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33 (2), 32. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2197-y>
 227. Kadhar, A., Kumar, A., Ali, J., & John, A. (2014). Studies on the survival and growth of fry of *Catla catla* (Hamilton, 1922) using live feed. *Journal of Marine Biology*, 2014, 1–7. <http://doi.org/10.1155/2014/842381>
 228. Kafarski, P. (2012). Rainbow code of biotechnology. *Chemik*, 66 (8), 814–816.
 229. Kallo, D. (2001). Applications of Natural Zeolites in Water and Wastewater Treatment. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 45 (1), 519–550. <http://doi.org/10.2138/rmg.2001.45.15>
 230. Kang, C.-K., Park, H. Y., Kim, M.-C., & Lee, W. J. (2006). Use of marine yeasts as an available diet for mass cultures of *Moina macrocopa*. *Aquaculture Research*, 37 (12), 1227–1237. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2006.01553.x>
 231. Kates, M. (1972) Techniques of lipidology: Isolation, analysis and identification of lipids. North-Holland Pub. Co., Amsterdam.

232. Kesminas, V. (2013). Present and potential production of Salmon (*Salmo salar* (L.)) and Sea Trout (*Salmo trutta trutta* (L.)) in Lithuanian rivers. In *Resources of eels and other migratory fish species* (p. 53). Vilnius.
233. Khatun, B., Rahman, R., Rahman, M.S. (2014). Evaluation of yeast *Saccharomyces cerevisiae* and algae *Chlorella vulgaris* as diet for rotifer *Brachionus calyciflorus*. *The Agriculturists*, 12 (1), 1-9.
234. Khudiyi, A.I. Bezhenar, R.V., & Khuda, L.V. (2014). Current status and development perspectives of pond fish culture in Chernivtsi Province, Ukraine. In *Aquaredpot Workshop on Innovative Outdoor Fish Farming Technologies* (p. 21). Szarvas.
235. Khudiyi, O., & Grynko, O. (2018) Structure of Fish Fry Communities in the Dniester Reservoir in 2017. In: *The 4th International Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB2018)* (p. 402). Kyiv.
236. Khudiyi, O., & Khuda, L. (2013) The distribution of alien fish species in the waters of Northern Bukovina and Northern Bessarabia (Ukraine). In *The IV International symposium "Invasion of alien species in Holarctic"* (Borok – 4) (p. 82). Borok.
237. Khudiyi, O., & Khuda, L. (2013). The population state of vyrezub *Rutilus frisii* (Nordmann, 1840) in the Dniester basin. In *Resources of eels and other migratory fish species* (pp. 71–72). Vilnius.
238. Khudiyi, O., & Khuda, L. (2014). Występowanie ryb jesiotrowatych w basenie Dniestru. In *Aktualny stan i ochrona naturalnych populacji ryb jesiotrowatych Acipenseridae* (pp. 53–59). Olsztyn: Instytut Rybactwa Środładowego.
239. Khudiyi, O., Kolman, R., Khuda, L., Marchenko, M., & Terteryan, L. (2014). Characterization of growth and biochemical composition of sterlet, *Acipenser ruthenus* L., juveniles from the Dniester population reared in

- RAS. *Archives of Polish Fisheries*, 22 (4), 249–256.
<http://doi.org/10.2478/aopf-2014-0026>
240. Kim, H.-J., Miyazaki, M., & Ntambi, J. M. (2002). Dietary cholesterol opposes PUFA-mediated repression of the stearoyl-CoA desaturase-1 gene by SREBP-1 independent mechanism. *Journal of Lipid Research*, 43 (10), 1750–7. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12364560>
241. Kim, S.-K. (Ed.). (2015). *Handbook of Anticancer Drugs from Marine Origin*. Cham: Springer International Publishing.
<http://doi.org/10.1007/978-3-319-07145-9>
242. Klüttgen, B., Dülmer, U., Engels, M., & Ratte, H. . (1994). ADaM, an artificial freshwater for the culture of zooplankton. *Water Research*, 28 (3), 743–746. [http://doi.org/10.1016/0043-1354\(94\)90157-0](http://doi.org/10.1016/0043-1354(94)90157-0)
243. Knight, J. A., Anderson, S., & Rawle, J. M. (1972). Chemical basis of the sulfo-phospho-vanillin reaction for estimating total serum lipids. *Clinical Chemistry*, 18 (3), 199–202.
244. Knowles, S., Hrubec, T. C., Smith, S. A., & Bakal, R. S. (2006). Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*). *Veterinary Clinical Pathology*, 35 (4), 434–440. <http://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2006.tb00160.x>
245. Kolkovski, S. (2001). Digestive enzymes in fish larvae and juveniles—implications and applications to formulated diets. *Aquaculture*, 200(1–2), 181–201. [http://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00700-1](http://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00700-1)
246. Kolman, R. (2010). *Jesiotry: Chów i hodowla. Poradnik hodowcy*. Olsztyn: IRS.
247. Kolman, R., Kapusta, A., Szczepkowski, M., & Bogacka-Kapusta, E. (2014). *Jesiotr ostronosy – bałtycki (Acipenser oxyrinchus oxyrinchus*

Mitchill) – Program restytucji bałtyckiej populacji jesiotra ostronosego w Polsce. Olsztyn: IRS.

248. Kolman, R., Khudiyi, O., Kushniryk, O., Khuda, L., Prusinska, M., & Wiszniewski, G. (2018). Influence of temperature and Artemia enriched with ω -3 PUFAs on the early ontogenesis of Atlantic sturgeon, *Acipenser oxyrinchus* Mitchill, 1815. *Aquaculture Research*, 49 (5), 1740–1751. <https://doi.org/10.1111/are.13629>
249. Kolman, R., Khudiyi, O., Prusinska, M., Wiśniewski, W., Duda, A., Zdanowski, B., & Terteryan, L. (2014). Nykstančių eršketinių žuvų išteklų atkūrimas pagal Dniestro sterlės (*Acipenser ruthenus* L.) pavyzdį. In *Eršketinės žuvis. Praeitis, dabartis ir ateitis* (pp. 18–20). Vilnius.
250. Kolman, R., Stanny, A., & Szczepkowski, M. (1996). Comparison of the effects of rearing sturgeon fry using various starters. *Archives of Polish Fisheries*, 4 (1), 45–56.
251. Kopicová, Z., & Vavreinová, S. (2007). Occurrence of squalene and cholesterol in various species of Czech freshwater fish. *Czech Journal of Food Sciences*, 25 (4), 195–201. <http://doi.org/10.17221/733-CJFS>
252. Kroupova, H., Machova, J., Piackova, V., Flajshans, M., Svobodova, Z., & Poleszczuk, G. (2006). Nitrite Intoxication of Common Carp (*Cyprinus carpio* L.) at Different Water Temperatures. *Acta Veterinaria (Brno)*, 75 (4), 561–569. <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.2754/avb200675040561>
253. Landrum, J. T. (2009). Carotenoids: physical, chemical, and biological functions and properties. CRC Press.
254. Latha, B.V., Jeevaratnam, K., Murali, H.S., Manja, K.S. (2005). Influence of growth factors on carotenoid pigmentation of *Rhodotorula glutinis* DFR-PDY from natural source. *Indian Journal of Biotechnology*, (4), 353-357.
255. Lavens, P., & Sorgeloos, P. (Eds.). (1996). *Manual on the production and use of live food for aquaculture*. Rome: FAO.

256. Lee, D.-H., Lim, S.-R., Ra, C.-S., & Kim, J.-D. (2012). Effects of Dietary Garlic Extracts on Whole Body Amino Acid and Fatty Acid Composition, Muscle Free Amino Acid Profiles and Blood Plasma Changes in Juvenile Sterlet Sturgeon, *Acipenser ruthenus*. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 25 (10), 1419–1429. <http://doi.org/10.5713/ajas.2012.12184>
257. Lekang, O.-I. (2013). *Aquaculture engineering* (2nd ed.). Wiley-Blackwell. Retrieved from <https://www.wiley.com/en-ua/Aquaculture+Engineering,+2nd+Edition-p-9780470670859>
258. Leliūna, E. (2013). Restoration of salmon fish in inland waters of Lithuania. In *Resources of eels and other migratory fish species* (pp. 65–67). Vilnius.
259. Letourneau, L. (2012). Aquaculture ethics in the biotechnology century. In G. L. Fletcher & M. L. Rise (Eds.), *Aquaculture Biotechnology* (pp. 345–353). Wiley-Blackwell.
260. Lim, L. C., Dhert, P., & Sorgeloos, P. (2003). Recent developments in the application of live feeds in the freshwater ornamental fish culture. *Aquaculture*, 227 (1–4), 319–331. [http://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00512-X](http://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00512-X)
261. Ljubojevic, D., Trbovic, D., Lujic, J., Bjelic-Cabrilo, O., Kostic, D., Novakov, N., & Cirkovic, M. (2013). Fatty acid composition of fishes from inland waters. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, (Supplement 1), 62–71. Retrieved from <https://www.agrojournal.org/19/01s-12.html>
262. Lotocka, M. (2004). Changes in carotenoid composition in different developmental stages of copepods: *Pseudocalanus acuspes* Giesbrecht and *Acartia* spp. *Journal of Plankton Research*, 26 (2), 159–166. <http://doi.org/10.1093/plankt/fbh021>

263. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, 193 (1), 265–75.
264. Lugert, V., Thaller, G., Tetens, J., Schulz, C., & Krieter, J. (2016). A review on fish growth calculation: multiple functions in fish production and their specific application. *Reviews in Aquaculture*, 8 (1), 30–42. <http://doi.org/10.1111/raq.12071>
265. Luis, A. I. S., Campos, E. V. R., de Oliveira, J. L., & Fraceto, L. F. (2019). Trends in aquaculture sciences: from now to use of nanotechnology for disease control. *Reviews in Aquaculture*, 11 (1), 119–132. <http://doi.org/10.1111/raq.12229>
266. Lund, I., El Kertaoui, N., Izquierdo, M. S., Dominguez, D., Hansen, B. W., & Kestemont, P. (2018). The importance of phospholipids combined with long-chain PUFA in formulated diets for pikeperch (*Sander lucioperca*) larvae. *British Journal of Nutrition*, 120 (6), 628–644. <https://doi.org/10.1017/S0007114518001794>
267. Lushchak, V. I. (2011). Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic Toxicology*, 101 (1), 13–30. <http://doi.org/10.1016/j.aquatox.2010.10.006>
268. Madreseh, S., Ghaisari, H. R., & Hosseinzadeh, S. (2018). Effect of Lyophilized, Encapsulated *Lactobacillus fermentum* and Lactulose Feeding on Growth Performance, Heavy Metals, and Trace Element Residues in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Tissues. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. <https://doi.org/10.1007/s12602-018-9487-7>
269. Makridis, P., & Vadstein, O. (1999). Food size selectivity of *Artemia franciscana* at three developmental stages. *Journal of Plankton Research*, 21 (11), 2191–2201. <http://doi.org/10.1093/plankt/21.11.2191>

270. Martínez-Álvarez, R. M., Morales, A. E., & Sanz, A. (2005). Antioxidant Defenses in Fish: Biotic and Abiotic Factors. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 15 (1–2), 75–88. <http://doi.org/10.1007/s11160-005-7846-4>
271. Masser, M. P., Rakocy, J., & Losordo, T. M. (1992). Recirculating Aquaculture Tank Production Systems Management of Recirculating Systems. *Southern Regional Aquaculture Center*, (452), 1–12. [http://doi.org/10.1016/S0002-8223\(99\)00856-1](http://doi.org/10.1016/S0002-8223(99)00856-1)
272. Mata-Gómez, L., Montañez, J., Méndez-Zavala, A., & Aguilar, C. (2014). Biotechnological production of carotenoids by yeasts: an overview. *Microbial Cell Factories*, 13 (1), 12. <http://doi.org/10.1186/1475-2859-13-12>
273. Matos, R. C., & Leulier, F. (2018). Everyone wins. *ELife*, 7. <https://doi.org/10.7554/eLife.42676>
274. McEvoy, L.A., Navarro, J.C., Bell, J.G., Sargent, J.R. (1995). Autoxidation of oil emulsions during the *Artemia* enrichment process. *Aquaculture*. 134, 101–112.
275. Melianawati, R., Rarastoeti, P., Nyoman, P., & Pudji, A. (2015). The effect of various kind of live feeds to digestive enzymes activity of coral trout *Plectropomus leopardus* (Lacepède, 1802) larvae. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 3 (2), 83–88.
276. Meyers, S. P. (1994). Developments in world aquaculture, feed formulations and role of carotenoids. *Pure and Applied Chemistry*, 66 (5), 1069–1076. <http://doi.org/10.1351/pac199466051069>
277. Minchin, D. (2007). Aquaculture and transport in a changing environment: Overlap and links in the spread of alien biota. *Marine Pollution Bulletin*, 55 (7), 302–313. <http://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2006.11.017>

278. Mirzoyan, N., Tal, Y., & Gross, A. (2010). Anaerobic digestion of sludge from intensive recirculating aquaculture systems: Review. *Aquaculture*, 306 (1–4), 1–6. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.05.028>
279. Moliné, M., Flores, M. R., Libkind, D., del Carmen Diéguez, M., Farías, M. E., & van Broock, M. (2010). Photoprotection by carotenoid pigments in the yeast *Rhodotorula mucilaginosa*: the role of torularhodin. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 9 (8), 1145. <http://doi.org/10.1039/c0pp00009d>
280. Moliné, M., Libkind, D., & van Broock, M. (2012). Production of Torularhodin, Torulene, and β -Carotene by *Rhodotorula* Yeasts (pp. 275–283). http://doi.org/10.1007/978-1-61779-918-1_19
281. Monroig, O., Navarro, J.C., Amat, F., Gonzales, P., Hontoria, F. (2007) Oxidative stability and changes in the particle size of liposomes used in the *Artemia* enrichment. *Aquaculture*. 266, 200-210.
282. Moradinasab, G., Raeisi, H., Paighambari, S. Y., Ghorbani, R., & Bibak, Z. (2012). Length-weight relationships, relative condition factor and relative weight of three fish species from beach seine fishing grounds in Iranian coastal waters of Caspian Sea. *Caspian Journal of Applied Sciences Research*, 1 (5), 36–40.
283. Moraes, G., Avilez, I. M., Altran, A. E., & de Aguiar, L. H. (2002). Biochemical effects of environmental nitrite in matrinxã (*Brycon cephalus*). In *Aquatic Toxicology: Mechanisms and Consequences. International Congress on the Biology of Fish*. (pp. 15–26). Vancouver.
284. Moraiti-Ioannidou, M., Castritsi-Catharios, J., Miliou, H., & Sorgeloos, P. (2009). Biochemical composition and digestive enzyme activity during naupliar development of *Artemia* spp from three solar saltworks in Greece. *Aquaculture*, 286 (3), 259–265. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.09.013>

285. Moreau, R., & Dabrowski, K. (1996). The primary localization of ascorbate and its synthesis in the kidneys of acipenserid (Chondrostei) and teleost (Teleostei) fishes. *Journal of Comparative Physiology B*, 166 (3), 178–183.
<http://doi.org/10.1007/BF00263980>
286. Mount, D. I., & Norberg, T. J. (1984). a Seven-Day Life Cycle Cladoceran Toxicity Test. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 3 (3), 425–434.
[http://doi.org/10.1897/1552-8618\(1984\)3\[425:ASLCCT\]2.0.CO;2](http://doi.org/10.1897/1552-8618(1984)3[425:ASLCCT]2.0.CO;2)
287. Mourente, G. (2003). Accumulation of DHA (docosahexaenoic acid; 22:6n-3) in larval and juvenile fish brain. In H. I. Browman & A. B. Skiftesvik (Eds.), *The Big Fish Bang. Proceedings of the 26th Annual Larval Fish Conference* (pp. 5817–82). Bergen: The Institute of Marine.
288. Movchan, Y. V. (2015). Environmental conditions, freshwater fishes and fishery management in the Ukraine. *Aquatic Ecosystem Health & Management*, 18 (2), 195–204.
<http://doi.org/10.1080/14634988.2015.1032163>
289. Murphy, M. E., & Kehrer, J. P. (1989). Oxidation state of tissue thiol groups and content of protein carbonyl groups in chickens with inherited muscular dystrophy. *Biochemical Journal*, 260(2), 359–364.
<https://doi.org/10.1042/bj2600359>
290. Murray, F., Bostock, J., & Fletcher, D. (2014). *Review of recirculation aquaculture system technologies and their commercial application*. Highlands and Islands Enterprise. University of Stirling Aquaculture. Retrieved from <https://www.stir.ac.uk/research/hub/publication/17483>
291. Naceur, B.H., Jenhani, A.B.R., Romdhane, M.S. (2011). Preliminary characteristics (biometry, sexual dimorphism and fatty acid profile) of the brine shrimp *Artemia salina* (L., 1758) (Crustacea: Anostraca) from Sabkhet Boujmal, Tunisia. *Int. J. Artemia Biology*, (1), 29–40.

292. Najdegerami, E. H., Baruah, K., Shiri, A., Rekecki, A., Van den Broeck, W., Sorgeloos, P., ... De Schryver, P. (2015). Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) larvae fed *Artemia* nauplii enriched with poly- β -hydroxybutyrate (PHB): effect on growth performance, body composition, digestive enzymes, gut microbial community, gut histology and stress tests. *Aquaculture Research*, 46 (4), 801–812. <http://doi.org/10.1111/are.12231>
293. Napora-Rutkowski, L., Kamaszewski, M., Bielawski, W., Ostaszewska, T., & Wegner, A. (2009). Effects of Starter Diets on Pancreatic Enzyme Activity in Juvenile Sterlet (*Acipenser ruthenus*). *The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh*, 61 (2), 143–150.
294. Navarro, J.C., Henderson, R.J., McEvoy, L.A., Bell, M.V., Amat, F. (1999). Lipid conversions during enrichment of *Artemia*. *Aquaculture*, 174, 155-166.
295. Navarro, J.C., Sargent, J.R. (1992). Behavioural differences in starving *Clupea harengus* L. larvae correlate with body levels of essential fatty acids. *J. Fish Biol.*, 41, 509-513.
296. Nelis, H.J.C.F., Lavens, P., Van Steenberge, M.M.Z., Sorgeloos, P., Criel, G.R., De Leenheer, A.P. (1988). Qualitative and quantitative changes in the carotenoids during development of the brine shrimp *Artemia*. *Journal of Lipid Research*, 29, 491-499.
297. Nguyen, V.T., Nhu, V.C., Dierckens, K., Nguyen, T.H., Tran, M.T., Sorgeloos, P. (2009). Can umbrella-stage *Artemia franciscana* substitute enriched rotifers for Cobia (*Rachycentron canadum*) fish larvae? *Aquaculture*, 289, 64–69.
298. Nicula, M., Bura, M., Simiz, E., Banatean-Dunea, I., Patruica, S., Marcu, A., ... Szelei, Z. (2010). Researches concerning reference values assessment of serum biochemical parameters in some fish species from

- Acipenseridae, Cyprinidae, Esocidae and Salmonidae Family. *Scientific Papers : Animal Science and Biotechnologies*, 43 (1), 498–505.
299. Nitrite as undesirable substances in animal feed - Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. (2009). *EFSA Journal*, 7 (4), 1017. <http://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1017>
 300. Nordgreen, A., Penglase, S., & Hamre, K. (2013). Increasing the levels of the essential trace elements Se, Zn, Cu and Mn in rotifers (*Brachionus plicatilis*) used as live feed. *Aquaculture*, 380, 120–129. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.11.032>
 301. Nowicki, M. (1889). *O rybach dorzeczy Wisly, Styru, Dniestru i Prutu w Galicyi*. Krakow.
 302. Ocalewicz, K. (2008). Biotechnologiczne metody rozrodu ryb i ich wykorzystanie w akwakulturze i ochronie zagrożonych gatunków. In *Biotechnologia w akwakulturze* (pp. 9–14). Wydawnictwo IRS. Olsztyn.
 303. Oh, S., & Choi, K. (2012). Optimal conditions for three brood chronic toxicity test method using a freshwater macroinvertebrate *Moina macrocopa*. *Environmental Monitoring and Assessment*, 184 (6), 3687–3695. <http://doi.org/10.1007/s10661-011-2216-2>
 304. Okunsebor, S., & Ayuma, V. (2011). Growth, survival rate and condition factor of *Heteroclaras hatchlings* fed cultured *Moina micrura*, shell free artemia and combination of both as starter feed. *Livestock Research for Rural Development*, 23 (3). Retrieved from <http://www.lrrd.org/lrrd23/3/okun23062.htm> Accessed July 20, 2017.
 305. Oliva-Teles, A. (2012). Nutrition and health of aquaculture fish. *Journal of Fish Diseases*, 35 (2), 83–108. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2011.01333.x>

306. Oliver, C. N., Ahn, B. W., Moerman, E. J., Goldstein, S., & Stadtman, E. R. (1987). Age-related changes in oxidized proteins. *The Journal of Biological Chemistry*, 262(12), 5488–5491.
307. Osmond, A. T. Y., & Colombo, S. M. (2019). The future of genetic engineering to provide essential dietary nutrients and improve growth performance in aquaculture: Advantages and challenges. *Journal of the World Aquaculture Society*. <http://doi.org/10.1111/jwas.12595>
308. Ovissipour, M., & Rasco, B. (2011). Fatty acid and Amino acid Profiles of Domestic and Wild Beluga (*Huso huso*) Roe and Impact on Fertilization Ratio. *Journal of Aquaculture Research & Development*, 2 (3). <http://doi.org/10.4172/2155-9546.1000113>
309. Padayatty, S. J., Katz, A., Wang, Y., Eck, P., Kwon, O., Lee, J.-H., ... Levine, M. (2003). Vitamin C as an Antioxidant: Evaluation of Its Role in Disease Prevention. *Journal of the American College of Nutrition*, 22 (1), 18–35. <http://doi.org/10.1080/07315724.2003.10719272>
310. Pagliarani, A., Pirini, M., Trigari, G., & Ventrella, V. (1986). Effect of diets containing different oils on brain fatty acid composition in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Comparative Biochemistry and Physiology. B, Comparative Biochemistry*, 83 (2), 277–82. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3956152>
311. Pandolfini, E. (2000). Grazing experiments with two freshwater zooplankters: fate of chlorophyll and carotenoid pigments. *Journal of Plankton Research*, 22 (2), 305–319. <http://doi.org/10.1093/plankt/22.2.305>
312. Pantazaki, A. Pritsa, D. Kyriakidis, A., Pritsa, A., & Kyriakidis, D. (2002). Biotechnologically relevant enzymes from *Thermus thermophilus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 58 (1), 1–12. <http://doi.org/10.1007/s00253-001-0843-1>

313. Papp, Z. G., Jeney, Z., & Jeney, G. (1995). Comparative studies on the effect of vitamin C feeding of European catfish (*Silurus glanis* L.) and sturgeon hybrid (*Acipenser ruthenus* L. × *Acipenser baeri* L.). *Journal of Applied Ichthyology*, 11 (3–4), 372–374. <http://doi.org/10.1111/j.1439-0426.1995.tb00043.x>
314. Piedrahita, R. H. (2003). Reducing the potential environmental impact of tank aquaculture effluents through intensification and recirculation. *Aquaculture*, 226 (1), 35–44. [http://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00465-4](http://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00465-4)
315. Podushka, S. B. (1999). NEW METHOD TO OBTAIN STURGEON EGGS. *Journal of Applied Ichthyology*, 15(4–5), 319–319. <http://doi.org/10.1111/j.1439-0426.1999.tb00327.x>
316. Prchal, J. T., & Gregg, X. T. (2005). Red Cell Enzymes. *Hematology*, 2005 (1), 19–23. <http://doi.org/10.1182/asheducation-2005.1.19>
317. Qin, C., Xie, Y., Wang, Y., Li, S., Ran, C., He, S., & Zhou, Z. (2018). Impact of *Lactobacillus casei* BL23 on the Host Transcriptome, Growth and Disease Resistance in Larval Zebrafish. *Frontiers in Physiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01245>
318. Raja, I., & Sapkal, H. (2011). Blood and electrolyte responses in *Clarias batrachus* exposed to nitrogen pollution. *Bioscience Biotechnology Research Communications*, 4 (2), 219–222.
319. Ramesh Kumar, B., Deviram, G., Mathimani, T., Duc, P. A., & Pugazhendhi, A. (2019). Microalgae as rich source of polyunsaturated fatty acids. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 17, 583–588. <https://doi.org/10.1016/J.BCAB.2019.01.017>
320. Raskovic, B., Stankovic, M., Markovic, Z., & Poleksic, V. (2011). Histological methods in the assessment of different feed effects on liver

- and intestine of fish. *Journal of Agricultural Sciences, Belgrade*, 56(1), 87–100. <http://doi.org/10.2298/JAS1101087R>
321. Ringø, E., Løvmo, L., Kristiansen, M., Bakken, Y., Salinas, I., Myklebust, R., ... Mayhew, T. M. (2010). Lactic acid bacteria vs. pathogens in the gastrointestinal tract of fish: a review. *Aquaculture Research*, 41 (4), 451–467. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02339.x>
322. Ringø, E., Hoseinifar, S. H., Ghosh, K., Doan, H. Van, Beck, B. R., & Song, S. K. (2018). Lactic Acid Bacteria in Finfish—An Update. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01818>
323. Saleh, M. C., & McConkey, S. (2012). NADH-dependent cytochrome b₅ reductase and NADPH methemoglobin reductase activity in the erythrocytes of *Oncorhynchus mykiss*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38 (6), 1807–1813. <http://doi.org/10.1007/s10695-012-9677-2>
324. Salo, D., Pacifici, R., Lin, S., Giulivi, C., & Davies, K. (1990). Superoxide dismutase undergoes proteolysis and fragmentation following oxidative modification and inactivation. *Journal of biological chemistry*, 265 (20), 11919–11927.
325. Savini, D., Occhipinti-Ambrogi, A., Marchini, A., Tricarico, E., Gherardi, F., Olenin, S., & Gollasch, S. (2010). The top 27 animal alien species introduced into Europe for aquaculture and related activities. *Journal of Applied Ichthyology*, 26 (s2), 1–7. <http://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2010.01503.x>
326. Sekkin, S., & Kum, C. (2011). Antibacterial Drugs in Fish Farms: Application and Its Effects. In *Recent Advances in Fish Farms*. InTech: 217-250. <http://doi.org/10.5772/26919>
327. Serrano, P. H. (2005). *Responsible use of antibiotics in aquaculture*. Rome: FAO.

328. Shchegolkova, N., Shurshin, K., Pogosyan, S., Voronova, E., Matorin, D., & Karyakin, D. (2018). Microalgae cultivation for wastewater treatment and biogas production at Moscow wastewater treatment plant. *Water Science and Technology*, 78 (1–2), wst2018088. <http://doi.org/10.2166/wst.2018.088>
329. Simpson, S. (2011). The blue food revolution: Making Aquaculture a Sustainable Food Source. *Scientific American*, 304 (2), 54–61.
330. Singer, T. D., & Ballantyne, J. S. (2004). Sturgeon and Paddlefish Metabolism. In *Sturgeons and Paddlefish of North America* (pp. 167–194). Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. http://doi.org/10.1007/1-4020-2833-4_9
331. Sison-Mangus, M. P., Mushegian, A. A., & Ebert, D. (2015). Water fleas require microbiota for survival, growth and reproduction. *The ISME Journal*, 9 (1), 59–67. <http://doi.org/10.1038/ismej.2014.116>
332. Siwicki, A. K., Morand, M., Fuller, J., Nissen, S., Goryczko, K., Ostaszewski, P., ... Glombski, E. (2003). Influence of feeding the leucine metabolite beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) on the non-specific cellular and humoral defence mechanisms of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Applied Ichthyology*, 19 (1), 44–48. <http://doi.org/10.1046/j.1439-0426.2003.00348.x>
333. Slater, M., D'Abramo, L., & Engle, C. R. (2018). Aquaculture Research Priorities for the Next Decade: A Global Perspective. *Journal of the World Aquaculture Society*, 49 (1), 3–6. <http://doi.org/10.1111/jwas.12503>
334. Smirnov, N. N. (2018). *Physiology of the Cladocera* (2nd ed.). Academic Press.
335. Somerville, C., Cohen, M., Pantanella, E., Stankus, A., & Lovatelli, A. (2014). *Small-scale aquaponic food production. Integrated fish and plant farming. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper*. Rome: FAO.

336. Sorgeloos, P., & Léger, P. (1992). Improved Larviculture Outputs of Marine Fish, Shrimp and Prawn. *Journal of the World Aquaculture Society*, 23 (4), 251–264. <http://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1992.tb00788.x>
337. Sorgeloos, P., Dhert, P., & Candreva, P. (2001). Use of the brine shrimp, *Artemia* spp., in marine fish larviculture. *Aquaculture*, 200 (1–2), 147–159. [http://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00698-6](http://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00698-6)
338. Stahl, W., & Sies, H. (2005). Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1740 (2), 101–107. <http://doi.org/10.1016/j.bbadis.2004.12.006>
339. Svobodová, Z., Máchová, J., Poleszczuk, G., Hůda, J., Hamáčková, J., & Kroupová, H. (2005). Nitrite Poisoning of Fish in Aquaculture Facilities with Water-recirculating Systems. *Acta Veterinaria Brno*, 74 (1), 129–137. <http://doi.org/10.2754/avb200574010129>
340. Szczepkowski, M., Kolman, R., & Szczepkowska, B. (2000). Changes in oxygen consumption and ammonia output in young Siberian sturgeon (*Acipenser baeri* Brandt). *Czech Journal of Animal Science*, 45 (9), 389–396.
341. Tacon, A. G. J., & Metian, M. (2008). Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture*, 285 (1–4), 146–158. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.08.015>
342. Tacon, A. G. J., & Metian, M. (2009). Fishing for Aquaculture: Non-Food Use of Small Pelagic Forage Fish—A Global Perspective. *Reviews in Fisheries Science*, 17 (3), 305–317.
343. Tanaka, Y. (1978). Comparative Biochemical Studies on Carotenoids in Aquatic animals. *Memoirs of Faculty of Fisheries - Kagoshima University*, 27 (2), 355–422.

344. Timmons, M. B., & Ebeling, J. M. (2007). *Recirculating Aquaculture*. Cayuga Aqua Ventures.
345. Tolasa, S., Cakli, S., & Ostermeyer, U. (2005). Determination of astaxanthin and canthaxanthin in salmonid. *European Food Research and Technology*, 221 (6), 787–791. <http://doi.org/10.1007/s00217-005-0071-5>
346. Tourniaire, F., Gouranton, E., von Lintig, J., Keijer, J., Luisa Bonet, M., Amengual, J., ... Landrier, J.-F. (2009). β -Carotene conversion products and their effects on adipose tissue. *Genes & Nutrition*, 4 (3), 179–187. <http://doi.org/10.1007/s12263-009-0128-3>
347. Treer, T., Šprem, N., Torcu-Koc, H., Sun, Y., & Piria, M. (2008). Length-weight relationships of freshwater fishes of Croatia. *Journal of Applied Ichthyology*, 24 (5), 626–628. <http://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2008.01084.x>
348. Trichet, V. V., Santigosa, E., Cochín, E., & Gabaudan, J. (2015). The Effect of Vitamin C on Fish Health. In *Dietary Nutrients, Additives, and Fish Health* (pp. 151–171). Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc. <http://doi.org/10.1002/9781119005568.ch7>
349. Turchini, G. M., Trushenski, J. T., & Glencross, B. D. (2019). Thoughts for the Future of Aquaculture Nutrition: Realigning Perspectives to Reflect Contemporary Issues Related to Judicious Use of Marine Resources in Aquafeeds. *North American Journal of Aquaculture*, 81 (1), 13–39. <http://doi.org/10.1002/naaq.10067>
350. Turianska, Y.I., Cheban, L.M., Marchenko, M.M. (2018). Complex evaluation of *Nostoc linckia* (Roth.) Born. et Flah. biomass, cultivated on waste water from recirculating aquaculture system. *Scientific Herald of Chernivtsy University. Biology (Biological Systems)*. 10 (2), 113–118.
351. Van Tien, N., Shuichi, S., Yutaka, H., Hiroshi, F., Tomonari, K. (2008). Effect of zinc and manganese supplementation in *Artemia* on growth and

- vertebral deformity in red sea bream (*Pagrus major*) larvae. *Aquaculture*. 285, 184-192.
352. Verreycken, H., Van Thuyne, G., & Belpaire, C. (2011). Length-weight relationships of 40 freshwater fish species from two decades of monitoring in Flanders (Belgium). *Journal of Applied Ichthyology*, 27 (6), 1416–1421. <http://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2011.01815.x>
 353. Viciano, E., Monroig, O., Salvador, A., Amat, J., Fiszman, S., Navarro, J.C. (2015). Enriching *Artemia* nauplii with a high DHA-containing lipid emulsion: search for an optimal protocol. *Aquaculture Research*, 46 (5), 1066–1077.
 354. Viciano, E., Monroig, Ó., Barata, C., Peña, C., & Navarro, J. C. (2017). Antioxidant activity and lipid peroxidation in *Artemia* nauplii enriched with DHA-rich oil emulsion and the effect of adding an external antioxidant based on hydroxytyrosol. *Aquaculture Research*, 48 (3), 1006–1019. <http://doi.org/10.1111/are.12943>
 355. Vite-Garcia, N., Simoes, N., Arjona, O., Mascaro, M., Palacios, E. (2014). Growth and survival of *Hippocampus erectus* (Perry, 1810) juveniles fed on *Artemia* with different HUFA levels. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 2 (1), 150–159.
 356. von Elert, E., Agrawal, M. K., Gebauer, C., Jaensch, H., Bauer, U., & Zitt, A. (2004). Protease activity in gut of *Daphnia magna*: evidence for trypsin and chymotrypsin enzymes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 137 (3), 287–296. <http://doi.org/10.1016/j.cbpc.2003.11.008>
 357. Walton, M. J., Cowey, C. B., & Adron, J. W. (1982). Methionine Metabolism in Rainbow Trout Fed Diets of Differing Methionine and Cystine Content. *The Journal of Nutrition*, 112 (8), 1525–1535. <http://doi.org/10.1093/jn/112.8.1525>

358. Warner, A. H., & Shridhar, V. (1985). Purification and characterization of a cytosol protease from dormant cysts of the brine shrimp *Artemia*. *The Journal of Biological Chemistry*, 260 (11), 7008–14.
359. Wdzięczak, J., Zaleśna, G., Wujec, E., & Pérès, G. (1982). Comparative studies on superoxide dismutase, catalase and peroxidase levels in erythrocytes and livers of different freshwater and marine fish species. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 73 (2), 361–365. [http://doi.org/10.1016/0305-0491\(82\)90298-X](http://doi.org/10.1016/0305-0491(82)90298-X)
360. Wegner, A., Ostaszewska, T., & Rożek, W. (2009). The ontogenetic development of the digestive tract and accessory glands of sterlet (*Acipenser ruthenus* L.) larvae during endogenous feeding. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 19 (4), 431–444. <http://doi.org/10.1007/s11160-009-9111-8>
361. Wilson, R. P., & Halver, J. E. (1986). Protein and Amino Acid Requirements of Fishes. *Annual Review of Nutrition*, 6 (1), 225–244. <http://doi.org/10.1146/annurev.nu.06.070186.001301>
362. Yaghoubi, M., Torfi Mozanzadeh, M., Marammazi, J. G., Safari, O., & Gisbert, E. (2017). Effects of dietary essential amino acid deficiencies on the growth performance and humoral immune response in silvery-black porgy (*Sparidentex hasta*) juveniles. *Aquaculture Research*, 48 (10), 5311–5323. <http://doi.org/10.1111/are.13344>
363. Yanes-Roca, C., Toledo-Cuevas, M. E., Sánchez, L. J., Born-Torrijos, A., Rhody, N., & Main, K. L. (2018). Digestive Enzyme Activity during Larval Development of Black Snook, *Centropomus nigrescens*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 49 (3), 612–624. <http://doi.org/10.1111/jwas.12466>

364. Zambonino Infante, J. L., & Cahu, C. L. (2001). Ontogeny of the gastrointestinal tract of marine fish larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 130 (4), 477–487. [http://doi.org/10.1016/S1532-0456\(01\)00274-5](http://doi.org/10.1016/S1532-0456(01)00274-5)
365. Zang, L., Ma, Y., Huang, W., Ling, Y., Sun, L., Wang, X., ... Wang, H. (2019). Dietary *Lactobacillus plantarum* ST-III alleviates the toxic effects of triclosan on zebrafish (*Danio rerio*) via gut microbiota modulation. *Fish & Shellfish Immunology*, 84, 1157–1169. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.11.007>
366. Zhang, J., Shen, H., Wang, X., Wu, J., & Xue, Y. (2004). Effects of chronic exposure of 2,4-dichlorophenol on the antioxidant system in liver of freshwater fish *Carassius auratus*. *Chemosphere*, 55 (2), 167–174. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2003.10.048>
367. Zingis, M. Reproduction of migratory fish resources in Latvia. In *Resources of eels and other migratory fish species* (p. 60). Vilnius.

ДОДАТКИ

Додаток 1

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ ПРАЦЬ

1. **Khudyi O.**, Khuda L. Występowanie ryb jesiotrowatych w basenie Dniestru // Actualny stan i ochrona naturalnych populacji ryb jesiotrowatych Acipenseridae, 2014. – Olsztyn: Instytut Rybactwa Srodladowego. – S. 53–59.
2. Khuda L., **O. Khudyi** Nitrite-induced methemoglobinemia of freshwater fishes reared in recirculating aquaculture systems / Recirculation technologies in indoor and outdoor systems. Handbook. – Szarvas: HAKI, 2013. – P.22–30.
3. Скільський І.В., Хлус Л.М., Череватов В.Ф., Смірнов Н.А., Чередарик М.І., **Худий О.І.**, Мелешук Л.І. Червона книга Буковини. Тваринний світ. – Чернівці: ДрукАрт, 2007. – Т.2, ч. 1. – 260 с.
4. Kolman R., **Khudyi O.**, Kushniryk O., Khuda L, Prusinska M, Wiszniewski G. Influence of temperature and Artemia enriched with ω -3 PUFAs on the early ontogenesis of Atlantic sturgeon, *Acipenser oxyrinchus* Mitchill, 1815 // Aquaculture Research. – 2018. – 49 (5). – P. 1740–1751.
5. Zvarych V., Nakonechna A., Marchenko M., **Khudyi O.**, Lubenets V., Khuda L., Kushniryk O., Novikov, V. Hydrogen Peroxide Oxygenation of Furan-2-carbaldehyde via an Easy, Green Method // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2019. – 67. – P. 3114–3117.
6. Prusińska M., **Khudyi O.**, Kolman R., Khuda L., Duda A., Wiszniewski G., Marchenko M., Kushniryk O. Impact of a polyunsaturated fatty acid supplement on enriching the nutritional value of brine shrimp nauplii, *Artemia* sp. //Fish. Aquat. Life. – 2018. – 26. – P. 173–184.
7. **Khudyi O.**, Kushniryk O, Khuda L, Marchenko M. Differences in nutritional value and amino acid composition of *Moina macrocopa* (Straus) using yeast

- Saccharomyces cerevisiae* and *Rhodotorula glutinis* as fodder substrates // International Letters of Natural Sciences. – 2018. – 68. – P.27–34.
8. **Khudiyi O.**, Khuda L., Kushniryk O., Prusinska M., Kolman R., Marchenko M. An effectiveness of artemia nauplii enrichment with polyunsaturated fatty acids using a supplement Easy DHA Selco // Acta Biol. Univ. Daugavp. – 2017. – 17 (2). – P. 169–183.
 9. **Khudiyi O.**, Marchenko M., Cheban L., Khuda L., Kushniryk O., Malishchuk I. Recirculating aquaculture systems waste water as a medium for increase of phytoplankton and zooplankton biomass // International Letters of Natural Sciences. – 2016. – 54. – P. 1–7.
 10. Prusińska M., Kushniryk O., **Khudiyi O.**, Khuda L., Kolman R. Impact of enriching larval brine shrimp (*Artemia* sp.) with a supplement containing polyunsaturated fatty acids on their growth and mortality // Archives of Polish Fisheries. – 2015. – 23 (3). – P. 149–154.
 11. Khuda L., **Khudiyi O.**, Marchenko M. Peculiarities of methemoglobin recovery system in erythrocytes of sterlet under nitrite intoxication // Inland Water Biology. – 2015. – 8 (2). – P.195–199.
 12. Kushniryk O., **Khudiyi O.**, Khuda L., Kolman R., Marchenko M. Cultivating *Moina macrocopa* Straus in different media using carotenogenic yeast *Rhodotorula* // Archives of Polish Fisheries. – 2015. – 23 (1). – P. 37–42.
 13. **Khudiyi O.**, Kolman R., Khuda L., Marchenko M., Terteryan L. Characterization of growth and biochemical composition of sterlet, *Acipenser ruthenus* L., juveniles from the Dniester population reared in RAS // Archives of Polish Fisheries. – 2014. – 22 (4). – P. 249–256.
 14. **Khudiyi O.**, Kobasa I., Kushniryk O., Khuda L. The application of basaltic tuffs in the technology of cultivation the live feed for fish – preliminary study // Food and Environment Safety. – 2015. – 14 (4). – P. 368–374.

15. Kolman R., **Chudy O.**, Terteryan L. Zarybienie narybkem sterlata gornego Dniestru // *Komunikaty rybackie*. – 2013. – № 5. – S. 15–16.
16. Kolman R., **Khudyi O.**, Zubkova E., Wiszniewski G., Duda A. Perspektywy odbudowy naturalnej populacji sterleta *Acipenser ruthenus* L. w basenie Dniestru *Komunikaty rybackie*. – 2016. – № 4. – S. 34–37.
17. **Худый А.И.** Адаптивные изменения в экстерьере вырезуба в связи с зарегулированием предгорного участка Днестра // *Вопросы рыбного хозяйства Беларуси*. – 2018. – Вып. 34. – С. 268–275.
18. **Худый А.И.**, Кушнирык О.В. Сравнительная характеристика сезонной динамики развития сообществ зоопланктона в системе рыбохозяйственный пруд-река // *Экологический мониторинг и биоразнообразие*. – 2011. – 6 (1). – С. 52–55.
19. **Худый А.И.** Морфо-экологические адаптации леща (*Abramis brama* L.) в условиях зарегулирования предгорного участка Днестра // *Buletin stiintific. Etnografie, stiintele naturii si muzeologie. Serie noua. Stiintele naturii*. – Chisinau, 2007. – № 6 (19). – P. 104–109.
20. **Khudyi O.I.**, Cheban L.M., Khuda L.V., Dzhuravets, Y., Shershen, T., Sumyk, Y., Kushniryk O., Prusinska, M. Effect of algal monocultures and combined algal drug on the survival of *Artemia* nauplii // *Scientific Herald of Chernivtsy University. Biology (Biological Systems)*. – 2018. – 10 (2). – 125–129.
21. Галоян Л. Л., **Худий О. И.**, Тертерян С. В. Мрук А. И., Худа Л. В. Застосування продукційних кормів різних виробників при вирощуванні райдужної форелі в умовах індустріальної аквакультури // *Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи)*. – 2016. – 8 (2). – С. 15–19.
22. **Худий О. И.**, Худа Л. В., Голубєв М. И., Бабин В. О., Джуравець Ю. Ю. Лабораторне виготовлення гранульованих кормів-основ для вивчення

- ефекту біологічно активних добавок при вирощуванні осетрових риб // Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи). – 2016. – 8 (1). – С. 15–19.
23. Кушнірик О. В., **Худий О. І.**, Худа Л. В. Гідролітична активність та поживна цінність *Simosephalus vetulus* (Muller) при культивуванні з різними кормовими субстратами // Вісник Одеського національного університету. Серія: Біологія. – 2015. – Том 20, Вип. 1(36). – С. 115–120.
24. **Худий О.І.**, Худа Л.В., Цапок О.Л. Характеристика ростових процесів вирезуба *Rutilus frisii* (Nordmann) в умовах Дністровського водосховища // Доповіді НАН України. – 2008. – №7. – С. 175–178. –
25. Кушнірик О.В., **Худий О.І.** Амінокислотний склад *Simosephalus vetulus* (Muller) за умов використання різних видів дріжджів як кормових субстратів // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. – 2015. – 3-4 (64). – С. 388–391.
26. Худа Л., Прусінська М., **Худий О.**, Кушнірик О.В., Кольман Р., Липка Н.П. Застосування препаратів поліненасичених жирних кислот у технології раннього вигодовування осетрових риб // Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи). – 2015. – 7 (2). – С. 163–170.
27. Кушнірик О. В., Марченко М. М., **Худий О. І.**, Васіна Л. М., Худа Л. В., Кавуля О. М. Застосування каротинсинтезуючих дріжджів *Rhodotorula glutinis* для культивування *Simosephalus vetulus* Muller у лабораторних умовах // Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи). – 2014. – 6 (1). – С.25–30.
28. Худа Л. В., Марченко М. М., **Худий О. І.** Інтенсивність окислювальних процесів у еритроцитах коропа за умов нітритної інтоксикації //

- Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи). – 2013. – 5 (1). – С.16–21.
- 29.Худа Л. В., Марченко М. М., Хачман Я. Ю., **Худий О. І.** Вплив нітритної інтоксикації на систему відновлення метгемоглобіну в еритроцитах карася сріблястого // Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи). – 2012. –4 (4). – С. 394–397.
- 30.**Худий О. І.**, Корчак Л. М., Худа Л. В. Характеристика гідроекологічних умов та структури іхтіокомплексу Дністровського водосховища в контексті відновлення промислового освоєння рибних запасів // Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи). – 2010. – 2 (1). – С.70–72.
- 31.**Худий О. І.**, Корчак Л. М. Адаптивні зміни в екстер'єрі окуня (*Perca fluviatilis* Linnaeus) на зарегулювання течії в умовах передгірської ділянки середнього Дністра // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету ім. Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. – 2008. – 3 (37). – С.169–171.
- 32.Гарматюк О. М., **Худий О. І.** Попередні дослідження показників зараження риб водойм Буковини паразитами *Ligula intestinalis* (Linnaeus) та *Pomphorhynchus laevis* (Muller) // Науковий вісник Чернівецького університету. Серія: Біологія. – 2007. – Вип. 343. – С. 22–29.
- 33.**Худий О. І.**, Клепач Д. В. Іхтіофауна малих рік басейну Прута в межах Чернівецької області // Науковий вісник Чернівецького університету. Серія: Біологія. – 2006. – Вип. 293. – С. 3–7.
- 34.**Худий О.І.** Особливості зміни екстер'єру плітки (*Rutilus rutilus* L.) внаслідок зарегулювання передгірської ділянки течії Дністра // Наукові записки Тернопільського національного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. – 2005. – 3 (26). – С.463–465.

35. **Худий О. І.** Поширення «червонокнижних» видів риб в басейнах Дністра, Пруту та Сірету в межах західного регіону України // Матеріали до 4-го видання Червоної книги України. Тваринний світ / Серія: «Conservation Biology in Ukraine». – Вип. 7, Т. 2. – Київ, 2018. – С. 339–346.
36. Костоусов В. Г., Корабельникова О. В., **Худый А. И.** О возможности реституции вырезуба (*Rutilus frisii*, Nordman) в бассейне верхнего Днепра / Костоусов В.Г. // Актуальные проблемы зоологической науки в Беларуси: Сборник статей XI Зоологической Международной научно-практической конференции, приуроченной к десятилетию основания ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам» (Беларусь, Минск, 1-3.11.2017 г.). – Т.1. – Минск: Издатель А.Н. Вараксин, 2017. – С. 204–213.
37. **Khudyi O.** Fish biodiversity of the Dniester, Prut and Siret basin systems within western region of Ukraine // Academician Leo Berg – 140: Collection of Scientific Articles. – Chisinau: Eco-TIRAS, 2016. – P. 557–561.
38. **Khudyi A., Khuda L.** Dniestro baseino sterlės biologija // Eršketinės žuvis. Praeitis, dabartis ir ateitis. – Vilnius, 2014. – P. 32–36.
39. Гарматюк О. М., **Худый А. И.** Анализ состояния изученности ихтиопаразитофауны реки Днестр // Поведение, экология и эволюция животных: монографии, статьи, сообщения. Сб. научных трудов РГУ имени С.А. Есенина (Серия Зоологическая). Т. 3. – Рязань: НП «Голос губернии», 2012. – С. 267–287
40. Худая Л. В., **Худый А. И.** Характеристика гидрохимического режима верховий Днестровского водохранилища // Академику Л.С. Бергу – 135 лет: Сборник научных статей. – Бендеры: Eco-TIRAS, 2011. – С.191–194.

41. **Худий О.** Сучасний стан іхтіоценозів транскордонних водотоків Чернівецької області // Україна – Румунія: транскордонне співробітництво. Збірник наукових праць. – Чернівці: Рута, 2007. – С.209–220.
42. Патент на корисну модель № 101103. С12N 1/12 Спосіб культивування фітопланктону / Марченко М.М., **Худий О.І.**, Чебан Л.М., Худа Л.В., Маліщук І.В; опуб. Бюл. № 16/2015, від 25.08.2015
43. Патент на корисну модель № 104602. А01К 67/033 Спосіб культивування зоопланктону на скидній воді із рибоводної установки / Марченко М.М., **Худий О.І.**, Худа Л.В., Чебан Л.М., Кушнірик О.В; опуб. Бюл. № 3/2016, від 10.02.2016
44. Патент на корисну модель № 121772. А01К 61/20, С12N 1/11 Спосіб вирощування *Daphnia magna* (Srtaus, 1820) сумісно з кормовим субстратом (мікроводоростями) / Марченко М. М., Чебан Л. М., Гринько О. Е., **Худий О. І.**, Кушнірик О. В., Худа Л. В., Дорош І. В. / Бюл. № 23 від 11.12.2017
45. **Khudiyi O.**, Grynko O. Structure of Fish Fry Communities in the Dniester Reservoir in 2017 // The 4th International Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB 2018) (3–6 July 2018, Kyiv). – Kyiv, 2018. – P. 402. –
46. Kushniryk O., **Khudiyi O.**, Khuda L., Marchenko M., Novikov V. Application of DON-1R drug in the technology of live feed cultivation for fishes // Ukr. Biochem. J. – 2017. –89 (3). – P. 71.
47. Кушнірик О. В., **Худий О. І.**, Худа Л. В. Вміст каротиноїдів у *Moina macroscopa* (Straus, 1820) за умов вигодовування каротинсинтезуючими дріжджами *Rhodotorula glutinis* та *Rhodotorula rubra* // Ukr. Biochem. J. – 2014. – 86 (5). (Supplement 2). – P. 199–200.
48. **Khudiyi O.**, Kushniryk O., Khuda L., Prusinska M., Kolman R. Impact of ω -3 PUFA bioencapsulation technology on the growth and survival rate of

- artemia nauplii // 2nd International Aquaculture Conference “Recirculating Aquaculture Systems (RAS): Life Science and Technologies” (2017.05.04). Book of Abstracts. – Daugavpils: Daugavpils University Academic Press “Saule”, 2017. – P.27–28.
- 49.**Khudiyi O.**, Marchenko M., Khuda L., Kushniryk O., Babyn V. The fatty acids profile of krill meal produced in Ukraine // State and prospects of food science and industry: Book of abstracts of the IV International Scientific and Technical Conference (Ternopil, 11–12 October 2017). – Ternopil: Publishing TNTU Ivan Puluj, 2017 – P. 149–150.
- 50.**Худий О.**, Кольман Р., Худа Л., Кушнірик О., Прусінська М., Чебан Л., Дуда А. Смертність та розміри науплій артемії за умов використання дріжджового препарату NUPRO // Проблеми функціонування та підвищення біопродуктивності водних екосистем: матеріали II Міжнародної науково-практичної конференції (12–15 вересня 2017р., м. Дніпро). – Дніпро: Вид-во ПЦ «Формат», 2017. – С.75–77.
- 51.Худа Л.В., Кушнірик О.В., **Худий О.І.** Амінокислотний профіль кормового зоопланктону *Moina macroscopa* та *Moina micrura* // Тернопільські біологічні читання – Ternopil Bioscience –2017. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю (20-22 квітня 2017 р., Тернопіль). – Тернопіль: ТОВ «Терно-граф», 2017. – С.151–155.
- 52.Доманчук А.Г., Коржик В.П., **Худий О.І.** Відтворення аборигенних видів риб у Дністрі: перші кроки // Регіональні аспекти флористичних і фауністичних досліджень: матеріали Четвертої міжнар. наук.-практ. конф. (28–29.04.2017) – Чернівці: Друк Арт, 2017. – С. 7–14.
- 53.Kolman R., **Khudiyi O.**, Zubcov E. Endangered species of sturgeon require active protection – restitution starlet population in the Dniestr // 9-th International Conference of Zoologist “Sustainable use, protection of animal

- world and forest management in the context of climate change”: dedicated to the 70th anniversary from the creation of the first research institutions and 55th of the inauguration and foundation of the Academy of Science of Moldova, 12–13 October, Chisinau. – Chişinău: S.n., 2016. – P. 209–210. –
54. Kushniryk O., Prusinska M., **Khudyi O.**, Khuda L., Kolman R., Duda A., Wiszniewski G. Effect of *Artemia* nauplii bioencapsulation with PUFA on fatty acids profile of *Acipenser oxyrinchus* larvae // Abstracts. The 9th International Congress of Comparative Physiology and Biochemistry, (23–28.09.2015, Kraków, Poland). – Kraków, 2015. – P. 339.
55. Кушнірик О. В., Худа Л. В., **Худий О. І.** Вплив різних кормових субстратів на амінокислотний склад культури *Simosephalus vetulus* Muller // «Біотехнологія XXI століття»: тези доповідей IX Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченій 170 річниці від дня народження Іллі Мечникова (Київ, 24.04.2015). – К.: НТУУ «КПІ», 2015. – С. 59.
56. **Худый А.**, Худа Л., Мацепа И. Оценка возможности использования иммуномодулятора ДОН-1R при выращивании осетровых в УЗВ // Тезисы докладов Международного научно-практического семинара по индустриальной аквакультуре «Иновационные технологии рыбоводства в рециркуляционных системах» (Горки, Беларусь, 18–19 мая 2015). – Минск: РУП «Институт рыбного хозяйства», 2015. – С. 34.
57. **Khudyi A.**, Bezhenar R., Khuda L. Current status and development perspectives of pond fish culture in Chernivtsi Province, Ukraine // Aquaredpot Workshop on Innovative Outdoor Fish Farming Technologies. Abstracts. (Vodňany, Czech Republic, 19–20 May 2014). – Szarvas, 2014. – P. 21.
58. **Худий О. І.**, Худа Л. В., Банар Т. І., Кушнір І. А. Характеристика ростових процесів дністровської стерляді в установці замкнутого

- водопостачання // Проблеми функціонування та підвищення біопродуктивності водних екосистем: матеріали Міжнародної науково-практичної дистанційної конференції, присвяченої 110-річчю до дня народження професора Г.Б. Мельникова (24–25.04.2014, Дніпропетровськ). – Дніпропетровськ: ДНУ, 2014. – С. 169–172. –
59. Кушнірик О. В., **Худий О. І.**, Худа Л. В., Малиш Н. І. Використання каротинсинтезуючих дріжджів *Rhodotorula glutinis* та *Rhodotorula rubra* у культивуванні *Moina macroscopa* (Straus, 1820) // Біотехнологія XXI: тези доповідей VIII Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченої 200 річниці з дня народження Т.Г. Шевченка (Київ, 25.04.2014). – К.: НТУУ «КПІ», 2014. – С. 42–43.
60. **Худий О.І.** Реєстр знахідок осетрових у басейні Дністра // Сучасні проблеми теоретичної та практичної іхтіології: матеріали VII Міжнародної іхтіологічної науково-практичної конференції (Мелітополь-Бердянськ, 10-13 вересня 2014 р.). – Херсон: Видавець Гринь Д.С., 2014. – С. 256–266.
61. **Худый А.**, Кольман Р., Худая Л., Марченко М.М., Тертерян Л.А., Здановски Б., Тертерян Л.Л., Прусинска М. Днестровская стерлядь: опыт выращивания в рециркуляционных системах // Сучасні проблеми теоретичної та практичної іхтіології: матеріали VI Міжнародної іхтіологічної науково-практичної конференції (Тернопіль, 9–12.10.2013). – Тернопіль: Вектор, 2013. – С. 297–300.
62. **Khudiyi O.**, Marchenko M., Khuda L., Mruk A., Terteran L. Sex reversion in rainbow trout under industrial conditions growing // 5-th Polish-Ukrainian Weigl Conference on Microbiology (Chernivtsi, May 23–25, 2013). – Chernivtsi, 2013, – P. 100.
63. Khuda L.V., **Khudiyi O.I.** The problem of nitrite intoxication of fish when grown in recirculating systems // AQUARED POT Workshop on

- Recirculating Aquaculture. Abstracts. (Vilnius, Lithuania, 13-14 May 2013).
 – Szarvas: Reseach Institute for Fisheries, Aquaculture and Irrigation, 2013.
 – P.18.
- 64.**Khudyi O.**, Khuda L. The distribution of alien fish species in the waters of Nothern Bukovina and Nothern Bessarabia (Ukraine) // The IV International symposium “Invasion of alien species in Holarctic” (Borok – 4) (September 22-28, 2013). – Borok, 2013. – P. 82.
- 65.Кушнирык О.В., **Худый А.И.** Пространственное распределение зоопланктона в средней части Днестровского водохранилища в летний период // Управление трансграничной рекой Днестр в рамках бассейнового Договора: междунар. конференция (20-21 сентября 2013 г., Кишинев). – Кишинев, 2013. – С. 206–210.
- 66.**Khudyi O.**, Khuda L. The population state of vyrezub *Rutilus frisii* (Nordmann, 1840) in the Dniester basin // International conference “Resources of eels and other migratory fish species”. Abstracts. (Vilnius, Lithuania, 16-17 May 2013) – Vilnius, 2013 – P. 71–72.
- 67.Чередарик М.И., **Худый А.И.** Влияние паводковых стоков на продукционно-деструкционные процессы в горных гидроэкосистемах // Экологический мониторинг и биоразнообразие: материалы IV международной научно-практической конференции (Ишим, 18-19 апреля 2012 г.). – Ишим: Изд-во ИГПИ им. Ершова, 2012. – С. 229–233.
- 68.**Худий О. І.**, Худа Л. В. Розвиток малої гідроенергетики в карпатському регіоні України: аналіз можливих ризиків та пошук шляхів їх мінімізації для іхтіофауни // Сучасні проблеми теоретичної і практичної іхтіології: матеріали V Міжнародної іхтіологічної науково-практичної конференції (Чернівці, 13–16.09.2012). – Чернівці: Книги–XXI, 2012. – С. 244–247.

- 69.Романчич О.О., **Худий О.І.** Структура локальних угруповань риб у мілководних рдестових заростях Дністровського водосховища // Оцінка екологічного стану території та перспективи розвитку туризму і рекреації Чернівецької області. Горбуновські читання (м. Чернівці, 19.04.2012). – Чернівці: ЧФ НТУ «ХПІ», 2012. – С. 70–71.
- 70.**Khudiy O.**, Korchak L., Bezhenar R., Lukan O. Danube streber and zingel distribution in the rivers of Northern Bukovina // First International Conference of Fish Diversity of Carpathians (Stara Lesna, Slovakia, 22–23.09.2011) – Bratislava: Institute of Zoology SAS, 2011. – P. 22–23. –
- 71.**Худий О.І.** Прояви статевого диморфізму в популяції вирезуба *Rutilus frisii* (Nordmann)з Дністровського водосховища // Збереження генофонду та відновлення популяцій цінних видів риб. – К.: ДІА, 2011. – С. 103–108.
- 72.**Худий О. І.**, Беженар Р. В., Лукань О. В. Раритетна іхтіофауна річки Черемош // IV Міжнародна іхтіологічна науково-практична конференція «Сучасні проблеми теоретичної та практичної іхтіології». (Одеса, 7–11.09.2011р.) – Одеса: Фенікс, 2011. – С. 234–237.
- 73.**Худий О.І.**, Гарматюк О.М., Рябко Г.Д., Кудер В.О. Попередні дослідження показників зараженості риб Дністровського водосховища паразитами // Охорона довкілля та проблеми збалансованого природокористування: матеріали міжнародної конференції (м. Кам'янець-Подільський, 10–11.05.2011). – Кам'янець-Подільський: Мошинський, 2011. – С. 109–111.
- 74.Чередарик М.І., **Худий О.І.** Оцінка стану гірських екосистем східних схилів Карпат // Всеукраїнська науково-практична конференція «Регіональні та транскордонні проблеми екологічної безпеки. Горбуновські читання». Тези доповідей. (м. Чернівці, 5–7 травня 2011 р.) – Чернівці: Прут, 2011. – С. 178–179.

75. **Худий О. І.**, Худа Л. В. Низхідна міграція білого товстолибика через греблю Дністровського водосховища // Сучасні проблеми теоретичної та практичної іхтіології. Матеріали III Міжнародної іхтіологічної науково-практичної конференції (Дніпропетровськ, 30 вересня-2 жовтня, 2010р.) – Дніпропетровськ, 2010. – С.189–192.
76. Крисько І.С., **Худий О.І.**, Петрак С.В. Характеристика інтенсивності спортивно-любительського рибальства на Дністровському водосховищі // Стан та перспективи використання водного басейну Поділля: промислові, екологічні, туристичні аспекти: матеріали міжнародної науково-практичної конференції (Кам'янець-Подільський, 13-14 жовтня, 2010 р.) – Кам'янець-Подільський, 2010. – С. 89–91.
77. **Худый А. И.**, Корчак Л. Н., Беженар Р. В., Смирнов Д. А. Размерно-весовая характеристика чопы малого *Zingel streber* (Siebold) из реки Прут // Экология, эволюция и систематика животных: Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (Рязань, 17-19 ноября 2009 г.). – Рязань: НП «Голос губернии», 2009. – С. 292–293.
78. **Худий О. І.**, Худа Л. В. Гідрохімічна характеристика передгірської ділянки течії ріки Прут // Збірка матеріалів II Міжнародної конференції «Сучасні проблеми біології, екології та хімії» (Запоріжжя, 01-03 жовтня 2009р.). – Запоріжжя, 2009. – С.108–109.
79. **Худий О. І.**, Худа Л. В., Цапок О. Л. Гістологічна характеристика яєчників статевозрілих самок туводної форми вирезуба *Rutilus frisii frisii* (Nordmann) Дністровського водосховища // Тези II Міжнародної іхтіологічної науково-практичної конференції (Севастополь, 16–19.09.2009). – Севастополь, 2009. – С. 165–167.
80. **Худый А.И.** К вопросу о распространении и численности туводной популяции вирезуба в системе Днестр-Днестровское водохранилище //

Управление трансграничным бассейном реки Днестр и Водная Рамочная Директива Европейского Союза. Материалы Международной конференции. Кишинев, 2-3 октября 2008 г. – Кишинев: Eco-Tiras, 2008. – С. 160 – 162.

81. **Худий О.І.** Актуальні проблеми іхтіоценозу Дністровського водосховища // Тези I Міжнародної науково-практичної конференції «Сучасні проблеми теоретичної та практичної іхтіології» (18-21 вересня 2008 р., Канів) – Канів, 2008. – С. 152–155.
82. Чередарик М.И., **Худый А.И.** Альгофлора горных рек восточной части Карпатского региона Украины // Современные проблемы альгологии: Материалы международной научной конференции и VIII Школы по морской биологии (9-13 июня 2008 г., Ростов-на-Дону). – Ростов-на-Дону: Изд-во ЮНЦ РАН, 2008. – С. 384–386.
83. Скільський І., Хлус Л., **Худий О.** Раритетний компонент фауни транскордонних територій в межах Буковини: сучасний стан та проблеми збереження // Україна–Румунія: результати і перспективи транскордонного співробітництва в контексті євроінтеграційних процесів: Матеріали міжнародної наукової конференції, Чернівці, 17–18 квітня 2007 р. – Чернівці: Рута, 2007. – С.176–178. –

Додаток 2. Акти впровадження

ЗАТВЕРДЖУЮ

Начальник Управління Державного
агентства рибного господарства у
Чернівецькій області

 В.В. Устименко
" 14 " 2018 р.

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор ДУ «Новокаховський
рибоводний завод частикових риб»

 І.М. Дікуха
" 13 " 2018 р.

ЗАТВЕРДЖУЮ

Ректор Чернівецького національного
університету імені Юрія Федьковича

 С.В. Мельничук
" 14 " 2018 р.

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор Інституту біології, хімії та біоресурсів
Чернівецького національного університету
імені Юрія Федьковича

 М.М. Марченко
" 14 " 2018 р.

А К Т

Впровадження результатів науково-дослідної роботи «Застосування біотехнологічних підходів у штучному відтворенні аборигенних риб з метою реінтродукції» (Номер державної реєстрації: 0117U001155).

Комісія у складі:

Голова Начальник Управління Державного агентства рибного господарства у
Чернівецькій області, Устименко Вікторія Володимирівна

Члени комісії:

1. Директор ДУ «Новокаховський рибоводний завод частикових риб»,
Дікуха Ігор Михайлович
2. Доцент кафедри біохімії та біотехнології ЧНУ, кандидат біологічних
наук, Худий Олексій Ігорович
3. Головний спеціаліст відділу іхтіології та регулювання рибальства
Управління Державного агентства рибного господарства у Чернівецькій
області, Гринько Ольга Ерастівна

у період з "13" червня 2018 р. по "14" червня 2018 р. провела роботу з визначення фактичного впровадження результатів роботи, що отримані при виконанні держбюджетної НДР «Застосування біотехнологічних підходів у штучному відтворенні аборигенних риб з метою реінтродукції» (Номер державної реєстрації: 0117U001155).

Комісія розглянула матеріали, що підтверджують виконання та впровадження роботи, такі як: Науково-біологічне обґрунтування обсягів зариблення Дністровського водосховища молоддю сома європейського (*Silurus glanis* Linnaeus, 1758) у 2018р., яке містить гідрохімічну характеристику водойми, аналіз структури іхтіокомплексу водосховища, дані щодо структури угруповань та рівня розвитку природної кормової бази риб, розрахунки потенційної рибопродуктивності та оптимальних обсягів зариблення Дністровського водосховища молоддю сома європейського.

Комісією встановлено, що на основі розробленого в ході виконання науково-дослідної роботи НБО проведено вселення молоді сома європейського у Дністровське водосховище, що у перспективі забезпечить підвищення ефективності рибогосподарського та рекреаційного використання ресурсів Дністровського водосховища.

Голова комісії:

Члени комісії

Науковий керівник теми

" 14 " 06 2018 р.

Устименко В.В.

Дікуха І.М.

Худий О.І.

Гринько О.Е.

Марченко М.М.

ЗАТВЕРДЖЕНО

В.о. ректора Чернівецького національного
університету імені Юрія Федьковича

О.В. Ангельський

М.П.

лютого 2019 р.

АКТ

про використання результатів дослідження
в навчальному процесі

Комісія у складі директора Інституту біології, хімії та біоресурсів Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича доктора біологічних наук, професора М.М. Марченка, доцента кафедри біохімії та біотехнології кандидата біологічних наук Л.М. Васіної і асистента кафедри біохімії та біотехнології кандидата біологічних наук Л.М. Чебан теперішнім актом стверджує, що здійснено впровадження в навчальний процес методичних рекомендацій:

- «Виготовлення гранульованих кормів-основ для осетрових риб»;
- «Вигодовування різновікових груп осетрових риб в умовах установок замкнутого водопостачання (УЗВ)»;
- «Біоінкапсуляція каротиноїдів в організм прісноводних гіллястовусих»;
- «Біоінкапсуляція поліненасичених жирних кислот у науплії артемії»;
- «Культивування живих кормів на оборотній воді з рибоводної УЗВ»;
- «Очистка забрудненої розчинними формами нітрогену води базальтовим туфом».

Вказані методичні рекомендації підготовлено доцентом кафедри біохімії та біотехнології Худим О.І. за результатами, отриманими при виконанні його дисертаційної роботи «Біотехнологічні засади збереження та відтворення рибних ресурсів водойм Карпатського регіону».

Зазначені методичні рекомендації використовуються в Інституті біології, хімії та біоресурсів Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича при проведенні лабораторних занять з наступних навчальних дисциплін у 2018/2019 н.р.:

- «Інтенсивні технології в аквакультурі» – для студентів ОР «Бакалавр» спеціальності 162. «Біотехнології та біоінженерія»;
- «Біотехнологія кормових організмів» для студентів ОР «Магістр» спеціальності 162. «Біотехнології та біоінженерія»

Члени комісії:

М.М. Марченко

Л.М. Васіна

Л.М. Чебан

дата